Köhler Eggers Fleischer Marre Pfister Pulverer

Medizinische

W. Köhler, H.J. Eggers, B. Fleischer, R. Marre, H. Pfister, G. Pulverer (Hrsg.)

Medizinische Mikrobiologie

Köhler Eggers Fleischer Marre Pfister Pulverer (Hrsg.)

Medizinische Mikrobiologie

8., völlig neu bearbeitete Auflage

Mit 369 Abbildungen und 197 Tabellen

Mit Beiträgen von
Rainer Ansorg, Peter Bartmann, Adolf Bauernfeind, Josef Beuth, Renate Blaschke-Hellmessen, Erik C. Böttger, Wolfgang Bredt, Barbara Bröker, Joachim Denner, Edeltrud Dietlein, Hans J. Eggers, Volker Erfle, Martin Exner, Bernhard Fleischer, Matthias Frosch, Barbara C. Gärtner, Hans R. Gelderblom, Alexander von Graevenitz, Jörg Hacker, Walter Hampl, Jürgen Heesemann, Franz X. Heinz, Heidi Holzmann, Wolfgang Jilg, Manfred Kist, Hans-Dieter Klenk, Werner Köhler, Dietmar Pierre König, Hans A. Kretzschmar, Joachim Kühn, Reinhard Kurth, Rudolf Lütticken, Walter A. Maier, Reinhard Marre, Gottfried Mauff, Thomas Mertens, Volker ter Meulen, Detlef Michel, Helmut Mittermayer, Lutz von Müller, Nikolaus Müller-Lantzsch, Georg Peters, Herbert Pfister, Georg Plum, Andreas Podbielski, Gerhard Pulverer, Reinhard Rüchel, Hans-Georg Sahl, Klaus Peter Schaal, Jörg Michael Schierholz, Herbert Schmitz, Karl-Eduard Schneweis, Gabriele Schönian, Heidi Schütt-Gerowitt, Hanns Martin Seitz, Günter Siegl, Hans-Jürgen Streckert, Heinz-Jürgen Thiel

URBAN & FISCHER
München · Jena

Zuschriften und Kritik an:
Urban & Fischer Verlag, Lektorat Medizin, Karlstraße 45, 80333 München

Herausgeber:

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Dr. h.c. Werner **Köhler,** vorm. Direktor des Instituts für Experimentelle Mikrobiologie, Adolf-Reichwein-Str. 26, 07745 Jena

Prof. Dr. med. Hans J. **Eggers,** vorm. Direktor des Instituts für Virologie der Universität zu Köln, Fürst-Pückler-Str. 56, 50935 Köln

Prof. Dr. med. Bernhard **Fleischer,** Direktor des Bernhard-Nocht-Instituts für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg

Prof. Dr. med. Reinhard **Marre,** Direktor des Instituts für Mikrobiologie und Immunologie, Universität Ulm, Robert-Koch-Straße 8, 89081 Ulm

Prof. Dr. rer. nat. Herbert **Pfister,** Direktor des Instituts für Virologie der Universität zu Köln, Fürst-Pückler-Straße 56, 50935 Köln

Prof. Dr. med. Dr. h. c. Gerhard **Pulverer,** vorm. Direktor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität zu Köln, Goldenfelsstraße 19–21, 50935 Köln

Die Deutsche Bibliothek – CIP-Einheitsaufnahme
Ein Titeldatensatz für diese Publikation ist bei der Deutschen Bibliothek erhältlich.

8. Auflage

ISBN 3-437-41640-5

Projektmanagement: Elke Klein, München
Redaktion: Dr. med. Bettina Haake, München; Sabine Stauber, Erlangen; Susanne Szczepanek, Dachau
Zeichnungen: Henriette Rintelen, Velbert
Herstellung: Petra Laurer, München
Umschlaggestaltung: prepress ulm GmbH, Ulm
Satz: Typodata GmbH, München
Druck und Verarbeitung: Wilhelm Röck Graphische Betriebe, Weinsberg

Printed in Germany

Aktuelle Informationen finden Sie im Internet unter der Adresse:
http://www.urbanfischer.de

Vorwort zur 8. Auflage

Der seit der letzten Auflage des Lehrbuches der Medizinischen Mikrobiologie eingetretene Wissenszuwachs machte eine gründliche Neubearbeitung erforderlich, die vertiefte Einblicke in die Pathogenese und eine verbesserte Diagnostik von Infektionskrankheiten ermöglicht. Bei einigen Erkrankungen gelingt erst jetzt durch molekulargenetische Verfahren ein zuverlässiger Nachweis. Mehr als 50 Autoren haben sich bemüht, diese Sachverhalte für Studierende der Medizin und der Biologie ebenso darzustellen wie für den angehenden Facharzt. Der begrenzte Umfang des Gesamtwerkes machte eine beschränkende Auswahl in den einzelnen Kapiteln erforderlich.

Als neuer Teil wurde das Kapitel „Klinische Infektiologie (organorientiert)" aufgenommen. In diesem Teil sind, nach Organsystemen geordnet, die wesentlichen Erreger, die von ihnen hervorgerufenen Infektionskrankheiten und deren Therapie zusammengefaßt, um auch aus klinischer Sicht einen Zugang zur Diagnose, Behandlung und Bekämpfung zu schaffen. Damit ergibt sich zwangsläufig eine gewisse Redundanz, die aber von den Herausgebern gewollt ist. Wir haben den etablierten Begriff „Infektiologie" übernommen, wohl wissend, daß er sprachlich korrekt „Infektologie" lauten muß.

Der Glaube, durch Antibiotika und Chemotherapeutika die Infektionskrankheiten besiegen zu können, hat sich als falsch erwiesen: in den industrialisierten Ländern durch Resistenzentwicklungen, in den Ländern der Dritten Welt durch den Mangel an diesen Therapeutika. Infektionskrankheiten sind, wenn auch mit Änderungen in ihrer jeweiligen Bedeutung, nach wie vor ein ernstzunehmendes Problem.
Das vorliegende Buch soll für ihre Erkennung, Bekämpfung und Verhütung eine Hilfe geben.

Jena, Köln, Hamburg, Ulm, im August 2001

Werner Köhler
Hans J. Eggers
Bernhard Fleischer
Reinhard Marre
Herbert Pfister
Gerhard Pulverer

Inhaltsverzeichnis

Autorenverzeichnis

Professor Dr. Rainer Ansorg
Universität - GH Essen
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Hufelandstr. 55
45122 Essen

Professor Dr. Dr. med. Peter Bartmann
Direktor des Zentrums für Kinderheilkunde
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn
Abteilung Neonatologie
Adenauerallee 119

Dr. Joachim Denner
Robert-Koch-Institut
Nordufer 20
13353 Berlin

Dr. med. Edeltrud Dietlein
Hygiene-Institut der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn
Sigmund-Freud-Str. 25
53127 Bonn

Professor Dr. med. REINHARD MARRE
Institut für Mikrobiologie und
Immunologie der Universität Ulm
Abt. Med. Mikrobiologie und Hygiene
Robert-Koch-Straße 8
89081 Ulm

Professor Dr. med. GOTTFRIED MAUFF
Laborärztliche Gemeinschaftspraxis
Dr. Kramer & Kollegen
Lauenburgerstr. 67
21502 Geesthacht

Professor Dr. med. THOMAS MERTENS
Institut für Mikrobiologie und Immunologie
der Universität Ulm
Abteilung Virologie
Albert-Einstein-Allee 11
89081 Ulm

Professor Dr. VOLKER TER MEULEN
Institut für Virologie und Immunbiologie
Versbacher Str. 7
97078 Würzburg

Priv.-Doz. Dr. rer. nat. DETLEF MICHEL
Institut für Mikrobiologie und Immunologie
der Universität Ulm
Abteilung Virologie
Albert-Einstein-Allee 11
89081 Ulm

Primarius Univ.-Professor
Dr. HELMUT MITTERMAYER
Institut für Hygiene, Mikrobiologie
und Tropenmedizin am
Krankenhaus der Elisabethinen
Fadingerstr. 1
A-4010 Linz
Austria

Dr. med. LUTZ VON MÜLLER
Institut für Mikrobiologie und Immunologie
der Universität Ulm
Abteilung Virologie
Albert-Einstein-Allee 11
89081 Ulm

Professor Dr. rer. nat.
NIKOLAUS MÜLLER-LANTZSCH
Institut f. Medizinische Mikrobiologie
und Hygiene
Abt. Virologie
Gebäude 47
66421 Homburg/Saar

Professor Dr. med. GEORG PETERS
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Domagkstraße 10
48149 Münster

Professor Dr. rer. nat. HERBERT PFISTER
Institut für Virologie der Universität zu Köln
Fürst-Pückler-Straße 56
50935 Köln

Dr. med. GEORG PLUM
Institut für Medizinische Mikrobiologie u.
Hygiene
Universität zu Köln
Goldenfelsstr. 19–21
50935 Köln

Professor Dr. med. Dr. rer. nat.
ANDREAS PODBIELSKI
Universität Rostock
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Schillingstr. 70
18057 Rostock

Professor Dr. med. Dr. h. c. GERHARD PULVERER
Direktor des Instituts für Medizinische
Mikrobiologie und Hygiene
der Universität zu Köln
Goldenfelsstraße 19–21
50935 Köln

Professor Dr. REINHARD RÜCHEL
Georg-Augusta-Universität
Hygiene-Institut, Abt. Med. Mikrobiologie
Universitätsklinikum
Kreuzbergring 57
37075 Göttingen

Professor Dr. HANS-GEORG SAHL
Institut für Medizinische Mikrobiologie
und Immunologie der Rheinischen
Friedrich-Wilhelms-Universität
Sigmund-Freud-Str. 25
53127 Bonn

Professor Dr. med. Klaus Peter Schaal
Institut für Med. Mikrobiologie und
Immunologie der Rheinischen
Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Sigmund-Freud-Straße 25
53127 Bonn

Dr. Jörg Michael Schierholz
Stiftung caesar
Friedensplatz 16
53111 Bonn

Professor Dr. Herbert Schmitz
Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin
Bernhard-Nocht-Straße 74
20359 Hamburg

Professor Dr. Karl-Eduard Schneweis
Institut für Medizinische Mikrobiologie
und Immunologie der Rheinischen
Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Sigmund-Freud-Str. 25
53127 Bonn

Dr. Gabriele Schönian
Institut für Mikrobiologie und Hygiene
Universitätsklinikum Charité
Humboldt-Universität zu Berlin
Dorotheenstr. 96
10098 Berlin

Dr. med. Dr. rer. nat. Heidi Schütt-Gerowitt
Institut für Medizinische
Mikrobiologie und Hygiene der Universität zu
Köln
Goldenfelsstraße 19–21
50935 Köln

Professor Dr. med. Hanns Martin Seitz
Institut für Medizinische Parasitologie
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-
Universität Bonn
Postfach 1825
53008 Bonn

Professor Dr. rer. nat. Günter Siegl
Institut für Klin. Mikrobiologie
und Immunologie IKMI
Frobergstraße 3
CH-9001 St. Gallen
Schweiz

Priv.-Doz. Dr. Hans-Jürgen Streckert
Alte Straße 41b
58452 Witten

Professor Dr. Heinz-Jürgen Thiel
Institut für Virologie
Fachbereich Veterinärmedizin (FB 18)
Frankfurter Str. 107
35392 Gießen

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
ADCC	antikörperabhängige zelluläre Zytotoxizität
Ag	Antigen
Ag-Ak-Reaktion	Antigen-Antikörper-Reaktion
Ak	Antikörper
APC	antigenpräsentierende Zellen
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
AT	Ataxia teleangiectasia
ATP	Adenosintriphosphat
BS	BLOOM-Syndrom
C	Komplement
C	Cytosin
CFU	colony forming units (= KBE)
CID	combined immunodeficiency (kombinierte Immunschwäche)
CID	cytomegalic inclusion disease (zytomegale Einschlußkörperchen-Krankheit)
CIN	zervikale intraepitheliale Neoplasien
CPE	zytopathischer Effekt
CR	Komplementrezeptor
CRP	C.-reaktives Protein
CSF	koloniestimulierender Faktor
CTL	$CD8^+$ zytotoxische T-Zellen
CTX	Choleratoxin
DC	dendritische Zellen
DNA	deoxyribonucleic acid (= DNS)
DNS	Desoxyribonukleinsäure (= DNA)
DTH	delayed type hypersensitivity (Typ IV-Allergie, Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp)
EB	Elementarkörperchen
EC	enterohämorrhagische Colitis
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FDC	follikulär dendritische Zellen
FG	Fleckfiebergruppe (Rickettsien)
FHA	Filament-Hämagglutinin (bei Bordetella pertussis)
FIA	Fluoreszenzimmunoassay
FTA-Test	Fluoreszenz-Treponema-Antikörper-Test
G	Guanin
GIT	Gastrointestinaltrakt
gp	Glykoprotein
HA	Hämagglutinin (Influenzaviren)
HAH	Hämagglutinations-Test
HGE	Human granulocytic Ehrlichia
HHT	Hämagglutinations-Hemmtest
HLA	human leukocyte antigen
HUS	hämolytisch-urämisches Syndrom
HWI	Harnwegsinfektion
ID_{50}	50%ige Infektionsdosis
IF	Immunfluoreszenz
IFN	Interferon
IfSG	Infektionsschutzgesetz
Ig	Immunglobulin
IIFT	Indirekter Immunofluoreszenz-Test
IL	Interleukin
IS-Element	Insertionssequenz
IVIG	intravenöse Applikation von Immunglobulin G
KBE	Koloniebildende Einheiten (= CFU)
KBR	Komplementbindungsreaktion

Abkürzung	Bedeutung
LAS	Lymphadenopathie-Syndrom
LD_{50}	50%ige letale Dosis
LPS	Lipopolysaccharid
LT	hitzelabile Enterotoxine (bei E. coli)
MALT	mukosaassoziiertes Lymphom
MBK	minimal bakterizide Konzentration
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MHK	minimale Hemmkonzentration
MIP	monocyte chemotactic protein (ein Chemokin)
mRNA	messenger ribonucleic acid
NA	Neuraminidase (Influenzaviren)
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NAT	Nukleinsäure-Amplifikations-Technik
NGU	nicht-gonorrhoische Urethritis
NI	Nosokomialinfektion
NK-Zellen	natural killer cells
NT	Neutralisationstest
OPSI	overwhelming post-splenectomy infection
ORF	Open reading frame
PAE	postantibiotischer Effekt
PAI	Pathogenitätsinsel
PBP	penicillinbindende Proteine
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PGU	postgonorrhoische Urethritis
PKA	Proteinkinase A
PML	progressive multifokale Leukoenzephalopathie
PMN	polymorphkernige neutrophile Leukozyten (polymorphkernige Neutrophile)
PT	Pertussis-Toxin
RANTES	regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted (ein Chemokin)
RB	Retikularkörperchen
RES	retikuloendotheliales System
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RIA	Radio-Immunoassay
RNA	ribonucleic acid (= RNS)
RNS	Ribonukleinsäure (= RNA)
ROI	reactive oxygen intermediate
rRNA	ribosomale RNA
RT	reverse Transkriptase
RT-PCR	reverse Transkriptions-Polymerase-Kettenreaktion
SCID	severe combined immunodeficiency; schwerer kombinierter Immundefekt
SGOT	Glutamat-Oxalazetat-Transaminase
SGPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
ssp.	Subspecies
ST	hitzestabile Enterotoxine (bei E. coli)
STD	sexually transmitted disease (Geschlechtskrankheiten)
STSS	streptokokkenbedingtes toxisches Schock-Syndrom
T	Thymin
TcP	Adhäsin (bei Vibrio cholerae)
TcR	T-Zellrezeptor
TPHA-Test	Treponema pallidum-Hämagglutinations-Test
TPI-Test	Treponema pallidum-Immobilisations-Test
tRNA	Transfer-RNA
TSS	toxic shock syndrome
TSST-1	toxic shock syndrome toxin-1
VIP	vasoaktives intestinales Peptid
Yad	Yersinia-Adhäsin
YOP	Yersinia outer proteins
ZG	Zeckenbiß-Fleckfiebergruppe (Rickettsien)

Abkürzungen von Gattungsnamen bei Bakterien, Pilzen und Protozoen

A. actinomycetemcomitans – Actinobacillus actinomycetemcomitans
A. bovis – Actinomyces bovis
A. gerencseriae – Actinomyces gerencseriae
A. hydrophila – Aeromonas hydrophila
A. israelii – Actinomyces israelii
A. pelletieri – Actinomadura pelletieri
A. tumefaciens – Agrobacterium tumefaciens
A. salmonicida – Aeromonas salmonicida
A. veroni – Aeromonas veroni

B. abortus – Brucella abortus
B. afzelii – Borrelia afzelii
B. anthracis – Bacillus anthracis
B. avium – Bordetella avium
B. bronchiseptica – Bordetella bronchiseptica
B. burgdorferi – Borrelia burgdorferi
B. canis – Brucella canis
B. catarrhalis – Branhamella catarrhalis
B. cepacia – Burkholderia cepacia
B. distasonis – Bacteroides distasonis
B. fragilis -Bacteroides fragilis
B. garinii -Borrelia garinii
B. gladioli – Burkholderia gladioli
B. henselae – Bartonella henselae
B. lusitaniae – Borrelia lusitaniae
B. mallei – Burkholderia mallei
B. melitensis – Brucella melitensis
B. neotomae – Brucella neotomae
B. ovatus – Bacteroides ovatus
B. ovis – Brucella ovis
B. parapertussis – Bordetella parapertussis
B. pertussis – Bordetella pertussis
B. pseudomallei – Burkholderia pseudomallei
B. quintana – Bartonella quintana
B. suis – Brucella suis
B. thetaiotaomicron – Bacteroides thetaiotaomicron
B. valaisiani – Borrelia valaisiani
B. vulgatus -Bacteroides vulgatus
B. wachsworthia – Bacteroides wachsworthia

C. albicans – Candida albicans
C. botulinum – Clostridium botulinum
C. burnetii – Coxiella burnetii
C. chauvoei – Clostridium chauvoei
C. difficile – Clostridium difficile
C. diphtheriae – Corynebacterium diphtheriae
C. fetus – Campylobacter fetus
C. freundii – Citrobacter freundii
C. histolyticum – Clostridium histolyticum
C. hominis – Cardiobacterium hominis
C. jejuni – Campylobacter jejuni
C. koseri – Citrobacter koseri
C. novyi – Clostridium novyi
C. perfringens – Clostridium perfringens
C. pneumoniae – Coxiella burnetii
C. psittaci – Chlamydia psittaci
C. septicum – Clostridium septicum
C. tetani – Clostridium tetani
C. trachomatis – Chlamydia trachomatis
C. xerosis – Corynebacterium xerosis

DAEC – diffus adhärente Escherichia coli

EAEC – enteroaggregative Escherichia coli
EHEC – enterohämorrhagische Escherichia coli
EIEC – enteroinvasive Escherichia coli
EPEC – enteropathogene Escherichia coli
ETEC – enterotoxische Escherichia coli
E. aerogenes – Enterobacter aerogenes
E. agglomerans – Enterobacter agglomerans
E. canis – Ehrlichia canis
E. chaffensis – Ehrlichia chaffensis
E. cloacae – Enterobacter cloacae
E. coli – Entamoeba coli
E. coli – Escherichia coli
E. corrodens – Eikenella corrodens
E. dispar – Entamoeba dispar
E. equi – Ehrlichia equi
E. faecalis – Enterococcus faecalis
E. faecium – Enterococcus faecium
E. fergusonii – Escherichia fergusonii
E. granulosus – Echinococcus granulosus
E. hartmanii – Entamoeba hartmanii
E. hermanni – Escherichia hermanni
E. histolytica – Entamoeba histolytica
E. ictaluri – Edwardsiella ictaluri
E. koshinae – Edwardsiella koshinae

E. multilocularis – Echinococcus multilocularis
E. rhusiopathiae – Erysipelothrix rhusiopathiae
E. sennetsu – Ehrlichia sennetsu
E. tarda – Edwardsiella tarda
E. vulneris – Escherichia vulneris

F. necrophorum – Fusobacterium necrophorum
F. novicida – Francisella novicida
F. tularensis – Francisella tularensis

G. vaginalis – Gardnerella vaginalis

H. alvei – Hafnia alvei
H. aphrophilus – Haemophilus aphrophilus
H. ducreyi – Haemophilus ducreyi
Hib – Haemophilus influenzae Typ b
H. influenzae – Haemophilus influenzae
H. paraaphrophilus – Haemophilus paraaphrophilus
H. parahaemolyticus – Haemophilus parahaemolyticus
H. parainfluenzae – Haemophilus parainfluenzae
H. pylori – Helicobacter pylori
H. segni – Haemophilus segni

K. kingae – Kingella kingae
K. ornithinolytica – Klebsiella ornithinolytica

M. avium – Mycobacterium avium
M. bovis – Mycobacterium bovis
M. chelonae – Mycobacterium chelonae
M. fortuitum – Mycobacterium fortuitum
M. genaveuse – Mycobacterium genaveuse
M. genitalium – Mycoplasma genitalium
M. haemolyticum – Mycobacterium haemolyticum
M. hominis – Mycoplasma hominis
M. lacunata – Moraxella lacunata
M. leprae – Mycobacterium leprae
M. marinum – Mycobacterium marinum
M. morganii – Morganella morganii
M. nonliquefaciens – Moraxella nonliquefaciens
M. ozzardi – Mansonella ozzardi
M. pneumoniae – Mycoplasma pneumoniae
M. streptocera – Mansonella streptocera
M. ulcerans – Mycobacterium ulcerans
M. xanthus – Myxococcus xanthus

N. abscessus – Nocardia abscessus
N. asteroides – Nocardia asteroides
N. brasiliensis – Nocardia brasiliensis
N. farcinica – Nocardia farcinica
N. gonorrhoeae – Neisseria gonorrhoeae
N. nova – Nocardia novia

O. tsutsugamushii – Orientia tsutsugamushii

P. acnes – Propionibacterium acnes
P. aeruginosa – Pseudomonas aeruginosa

Abkürzungen von Virusbezeichnungen

AIDS	Acquired immunodeficiency Syndrome, Immunschwächesyndrom
ALV	avian leucosis virus
BIV	bovine immunodeficiency virus
BKV	BK-Virus (ein Papillomvirus)
IMV	intrazelluläre, reife, infektiöse Viren (bei Poxviren)
JCV	JC-Virus (ein Papillomvirus)
LCMV	Lymphocytäres Choriomeningi-

1 Allgemeine Infektionslehre

1.1 Grundlagen der Infektionslehre

Reinhard Marre

(Die Ausführungen in diesem Abschnitt bauen auf dem gleichnamigen Kapitel der 7. Auflage von Herrn M. Röllinghoff auf.)

1.1.1 Stellung der Infektionslehre in Geschichte und Gegenwart

Infektionskrankheiten gehören ebenso wie Hunger, Kriege und Naturkatastrophen zu den ständigen, häufig mörderischen Begleitern der Menschheit. Die Infektionserreger haben die Entwicklung der Menschheit geprägt und sind ko-evolutionär von ihr geprägt worden (Abb. 1.1). Gleichzeitig sind sie Spiegel der jeweiligen Lebensformen. Dabei traten die Infek-

Krankheiten wird durch gesetzliche Vorschriften und Verordnungen (Infektionsschutzgesetz, Biostoffverordnung, Lebensmittel- und Trinkwasserverordnung) so detailliert erfaßt wie die Infektionskrankheiten und bei kaum einer anderen Gruppe von Krankheiten nimmt der Staat einen solchen Einfluß auf Präventionsmaßnahmen (staatlich empfohlene Impfungen, amtsärztlich verordnete Hygienemaßnahmen). Eine Sonderposition haben die Infektionskrankheiten auch, weil viele Präventivmaßnahmen (z.B. Impfungen) besonders einfach und nachhaltig wirksam sind und die voraussichtliche Wirksamkeit von Therapeutika bereits durch in vitro Untersuchungen ermittelt werden kann. Der **Nachweis von Infektionskrankheiten** mit den Laborverfahren der Mikrobiologie besitzt daher verschiedene Funktionen, die sich nicht nur auf die individuell kurativen Zwecke beschränken:

Wir sind besiedelt!

Im Biotop Mensch ist der Mensch in der Unterzahl

Kein Mensch ist allein. Er ist ein Ökosystem. In unserem Körper zählt man Billionen von Zellen. Rund 90% von ihnen sind aber nicht menschlich, sondern sie gehören zu jenen Geschöpfen, denen die Evolution den Menschen zugewiesen hat: als Nahrungsmittel und Schlafplatz, Hochzeitsmarkt und Raststätte. Bakterien stellen das Gros; allein auf der etwa 1,6 qm großen Haut eines Menschen leben soviele Mikroben wie Menschen auf unserem Planeten. In unserer Mundhöhle schwimmt die Amöbe *Entamoeba gingivalis*; in den Poren unseres Gesichts die wurmähnliche Milbe *Demodex folliculorum*. Schließlich existieren auch Flöhe, Fliegen, Mücken, Wanzen, Egel, Zecken im Habitat Mensch.

Wir sind besiedelt! Ins Positive gewendet: Kein Mensch ist allein und war jemals allein.

Das wirkt sich unweigerlich auf das Bild des Menschen aus. Wenn wir in unserem Körper nur eine Art unter Hunderten stellen, kann keine Rede mehr davon sein, *Homo sapiens* sei die mächtigste Spezies. Falls Außerirdische jemals einen Menschen treffen sollten, würden sie ihn vermutlich als Ansammlung vieler kleiner Lebewesen bezeichnen, die sich auf einen ziemlich großen niedergelassen haben. Angesichts der Mehrheitsverhältnisse in uns und auf uns stellt sich die Frage, wer hier wessen Untertan ist. Hat der Mensch wirklich das Tier domestiziert? Oder haben Geschöpfe wie Kopfläuse und Amöben den Mensch gezähmt? Eines ist sicher: der Mensch meistert die Fährnisse des Lebens nicht allein; vielmehr hat sich da in den vergangenen Jahren eine ungemein bunte Lebensgesellschaft gefunden, in der immer etwas los ist. Erst in vergleichsweise kurzer Zeit, in der Steinzeit, ist die Kleiderlaus zu uns gestoßen. Der echte Menschenfloh dagegen, eben noch begafftes Zierkustierchen, findet sich mittlerweile auf der Liste der vom Aussterben bedrohten Arten. Einige unserer Bewohner gehören zu den gefährlichsten Tieren der Welt, übertragen sie doch Malaria, Typhus, Gelbfieber und die Pest. Chlamydien scheinen Herzinfarkte zu begünstigen, bestimmte Mundbakterien bewirken Karies, und die säurefesten Mikroben *Helicobacter pylori* fressen uns Geschwüre in den Magen. Der Keim *Mikrococcus sedentarius* schließlich steht im Verdacht, käsigen Fußgeruch zu verbreiten.

Doch die allermeisten sind harmlose Tischgenossen, Kommensalen. Mehr noch. Ortsansässige Bakterien bilden auf der Haut eine Schützenlinie, um schädliche Mikroorganismen abzuwehren. Im Darm wiederum assistieren Bakterien bei der Verdauung und versorgen die Menschen mit lebenswichtigen Vitaminen. Dieses dichte ökologische Miteinander in Gut und Böse unterteilen zu wollen, wäre vermessen.

Als hätten sie dies geahnt, sind unsere Vorfahren mit ihren Bewohnern weit gelassener umgegangen. Ötzi ertrug einen Peitschenwurm namens *Trichuris* und andere Plagegeister. Noch vor 200 Jahren verstieß es nicht gegen die guten Sitten, auch in vornehmster Gesellschaft mit einem Flohglas nach Ungeziefer zu suchen. Heute empören wir uns, wenn eine Mücke unser Blut trinkt. Denn Körpersäfte sind das geheimste, was wir austauschen können. Doch schlagen wir die vollgesogene Mücke dann voller Rachsucht tot, haben wir vornehmlich uns selbst totgeschlagen, denn mehr als die Hälfte des Flecks auf der Tapete besteht aus unserem eigenen Blut.

Fast scheint es, mit unseren Besiedlern verhielt es sich wie mit Kindern: ohne sie wäre unser Dasein ärmer, dunkler und einsamer. Und ähnlich wie wir unsere Gene an die nächste Generation geben, vererben Mutter und Vater dem Nachwuchs ihre persönliche Flora und Fauna. Bereits mit dem Durchtritt durch die Scheide nimmt es Bakterien auf, die sich in den ersten Tagen noch vermehren. Vom ersten Schrei an lassen uns die Bakterien nicht mehr allein und respektieren unsere Gastfreundschaft ein ganzes Leben lang. Dann erst, wenn wir tot sind, fressen sie uns auf.

Von Jörg Blech, aus „Das Leben auf dem Menschen – die Geschichte unserer Besiedler"

Abb. 1.1 Biotop und Ökosystem Mensch. Dieser Beitrag ist in dem Buch „Leben auf dem Menschen – die Geschichte unserer Besiedler" von Jörg Blech enthalten (Rowohlt-Verlag, 2000).

1.1.2 Konzepte der Klinischen Infektiologie

Während sich die Medizinische Mikrobiologie mit der Laboratoriumsdiagnostik befaßt, besteht die Aufgabe der Klinischen Infektiologie in der patientennahen Diagnostik, der Veranlassung der Laboratoriumsdiagnostik, der Umset-

Proteins. Diese Befunde sind typisch für bakterielle Infektionen, während viele virale Infektionen nur eine geringfügige Veränderung der unspezifischen Entzündungsmarker verursachen. Eine Bluteosinophilie spricht für parasitär bedingte Infektionen.

Die **Aussagekraft** der mikrobiologischen Labor-

kationstechniken, Antigen- und Antikörpernachweise sowie den Nachweis mikrobieller Toxine umfassen. Die mikroskopischen und kulturellen Erregernachweise haben den Vorteil, daß sie ein breites Erregerspektrum erfassen, so daß erregerspezifische Untersuchungsanforderungen häufig nicht erforderlich sind. Desweiteren steht bei dem kulturellen Nachweis ein Isolat auch für weitere Charakterisierungen (Antibio-

1.1.3 Allgemeine Infektionslehre

Der Mensch ist nur bis zu seiner Geburt frei von Mikroorganismen, anschließend wird er von verschiedensten Arten besiedelt, so daß normalerweise ein ökologisches Gleichgewicht zwischen Mikroorganismus und Makroorganismus entsteht, bei dem der Mikroorganismus zwar auf der Haut oder den Schleimhäuten des Wirts lebt,

gleichwohl über eine Stimulation des Immunsystems zu einer stillen Feiung führen, also zu einem Schutz des Wirts gegenüber einer erneuten Infektion mit dem gleichen Erreger. Im Anschluß an eine Infektionskrankheit kann der Körper vor weiteren Infektionen mit demselben Erreger geschützt sein. Es entsteht eine Immunität, die, wie manche Impfung auch, einen lebenslangen Schutz verleihen kann. Erkrankungen, die eine hohe **Kontagiosität** (Ansteckungsfähigkeit) besitzen und zu einer lang anhaltenden Immunität führen, imponieren meist als Kinderkrankheiten, weil bereits der allererste Kontakt mit dem Erreger über die ausgelöste Erkrankung vor weiteren Infektionen praktisch ein Leben lang schützt.

Nach Überstehen einer Krankheit wie z.B. Typhus, Paratyphus oder Diphtherie kommt es bei einigen Menschen nicht zu einer restlosen Eliminierung der Erreger. Diese leben noch in bestimmten Nischen des Körpers und werden von dort aus mehr oder minder lange ausgeschieden. Solche Personen werden **Dauerausscheider** oder Ausscheider genannt und sind epidemiologisch von großer Bedeutung. Werden pathogene Mikroorganismen nur vorübergehend ausgeschieden, spricht man von **Keimträgern**. Ein Beispiel dafür sind Personen, die mit *Staphylococcus aureus* kolonisiert sind (meist im Naseneingangsbereich), nicht erkrankt sind, jedoch diese Mikroorganismen an Dritte weitergeben.

Infektionen können ihren Ausgang von sehr verschiedenen Bereichen nehmen. *Exogene Infektionen* stammen aus der belebten und unbelebten Umwelt; bei *endogenen Infektionen* ist die Standortflora Ursprung der Infektion. Als **nosokomiale Infektionen** bezeichnet man Infektionen, die im Krankenhaus oder in der ärztlichen Praxis erworben werden. Sie können als endogene oder als exogene Infektion entstehen. Begünstigt werden nosokomiale Infektionen durch Erkrankungen (z.B. Krebserkrankungen, AIDS), diagnostische und therapeutische Verfahren (z.B. Zytostatikatherapie, Fremdkörperimplantationen), welche die Infektabwehrfunktionen beeinträchtigen. Wegen der bestehenden Grunderkrankung verlaufen nosokomiale Infektionen häufig besonders schwer; viele der nosokomialen Infektionserreger sind darüber hinaus durch eine besonders hohe erworbene oder natürliche Resistenz gegenüber Antibiotika ausgezeichnet.

Entscheidend für eine erfolgreiche Infektion ist das Eindringen des Mikroorganismus in den Wirt. Als wichtigste Eintrittspforte dienen die Schleimhäute des Respirations-, Magen-Darm- und des Urogenitaltraktes. Desweiteren sind die Bindehaut des Auges und die manchmal mikroskopisch kleinen Verletzungen der Haut oder Insektenstiche als Eintrittspforte zu nennen. Nur ganz wenige Krankheitserreger können direkt durch die intakte Haut eindringen. Ist der Mikroorganismus in den Körper gelangt, dann muß er sich an Zellen oder extrazelluläre Matrixsubstanzen binden, um im Wirt zu überleben und um nicht weggeschwemmt zu werden. Nach erfolgter Bindung kann der Infektionserreger in manchen Fällen Toxine bilden, welche das Gewebe schädigen, so daß sich der Infektionserreger einen Weg in den Makroorganismus bahnt.

Die **Infektionskrankheit** ist ein Ergebnis der Invasion des Erregers und der Infektabwehrreaktionen. Verstärkte Blutzufuhr, Einwandern von Entzündungszellen, Störungen der Kapillarpermeabilität, Zell- und Gewebsuntergang und sich aufbauende reparative Prozesse erklären die Lokalsymptomatik von Schwellung, Rötung, Schmerz und Eiterbildung. Die Allgemeinsymptomatik wird von Interleukin-1, Interleukin-6 und Tumornekrosefaktor vermittelt.

Das Zeitintervall zwischen der Aufnahme eines Krankheitserregers und der Ausbildung von Krankheitssymptomen wird als **Inkubationszeit** bezeichnet. Ihre Dauer ist vielfach charakteristisch für bestimmte Krankheiten, sie kann sich insbesondere bei vielen Viruserkrankungen und klassischen Infektionskrankheiten in einem sehr engen zeitlichen Rahmen bewegen und ist somit für die Diagnose und die Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge bedeutsam. Epidemiologisch besonders wichtig ist, daß ein Mensch bereits während der Inkubationszeit Erreger ausscheiden und somit zur Infektionsquelle für andere werden kann (z.B. Hepatitis A). Schließlich ist darauf hinzuweisen, daß nicht bei allen Infektionskrankheiten die Inkubationszeiten angegeben werden können, besonders bei inapparent verlaufenden und bei primär chronischen Infektionskrankheiten (z.B. Tuberkulose).

Viele pathogene Mikroorganismen haben im Körper bevorzugte Besiedlungsgebiete, so z.B. Meningokokken in den Hirnhäuten, Shigellen im Dickdarm, *Streptococcus mutans* im Zahnschmelz. Dieses Verhalten wird als **Tropismus** bezeichnet. Die molekularen Grundlagen des Tropismus sind für einige wichtige Infektionserreger bekannt.

Die sich vermehrenden Infektionserreger kön-
nen sich jedoch, insbesondere wenn sie keinen

1. der Keim regelmäßig im erkrankten Organis-

Die Entdeckung der Borreliose – von der Schwierigkeit, eine Infektionskrankheit zu diagnostizieren

Im Städtchen Lyme, Connecticut, USA, kam es zu Beginn der 60iger Jahre zu einer Zunahme von unklaren Erkrankungen mit Arthritiden, Erythem, neurologischen Störungen, chronischer Müdigkeit, Gewichtsverlust, die, erst nachdem die Hausfrau Polly Murray die entsprechenden Daten zusammengestellt und am 20. November 1975 einem Epidemiologen an der Yale Rheumatology Clinic, Dr. A. C. Steere, präsentiert hatte, kausal geklärt werden konnte. Bis dahin hatte Frau Murray mehr als zwanzig Ärzte konsultiert, die meistens Diagnosen aus den Kategorien Hypochonder, Depression, Psychose stellten. Die lokalen Gesundheitsbehörden nahmen die Klagen von Frau Murray auf die leichte Schulter und sahen in ihr eine notorische Querulantin. Erst als es auch zu einer Epidemie von Erkrankungen mit juveniler rheumatoider Arthritis kam, wurden die Behörden hellhörig. Sie stellten den Kontakt zwischen Frau Murray und Dr. Steere her, der gerade vom Center for Disease Control kam und auf der Suche nach einem neuen Forschungsgebiet war. Die sorgfältige klinische und epidemiologische Bewertung der Erkrankungen widerlegte die Diagnose der juvenilen rheumatoiden Arthritis und ergab Hinweise auf eine Umweltexposition. Aufgrund der Ähnlichkeiten der Hauterscheinungen mit dem seit 1908 aus Europa bekanntem Erythema chronicum migrans und der in diesem Zusammenhang diskutierten Zeckengenese wurden die Untersuchungen auf Ektoparasiten gelenkt. In der Tat konnten die Bewohner von Lyme über eine Zunahme von Zecken seit ca. 1960 berichten, und es wurde im Vergleich mit einer benachbarten, von der rätselhaften Erkrankung nicht befallenen Region ein um den Faktor 16 höherer Zeckenbefall von Damwild gefunden. 1981 konnte schließlich Dr. W. Burgdorfer, Rocky Mountain Laboratories, Montana, USA, die Spirochäten nachweisen, die später als *Borrelia burgdorferi* benannt und als eindeutige Ursache der in Lyme beobachteten Erkrankung identifiziert wurden.

ARONOWITZ, P. B.: A Connecticut housewife in Francis Bacon's court: Polly Murray and Lyme disease. The Pharos 52: 9–12 (1989)

Abb. 1.3 Wie wird eine Infektionskrankheit entdeckt?

Die KOCHschen Postulate wurden in den letzten Jahren auf die molekulare Pathogenitätsforschung übertragen und wurden als molekularbiologische Postulate oder KOCH-FALKOWsche Postulate bezeichnet, da der amerikanische Forscher STANLEY FALKOW erstmalig den Begriff „Virulenzfaktor" definierte. Die drei molekularbiologischen Postulate lauten:

1. Die der Pathogenität zugeordneten Eigenschaften eines Mikroorganismus müssen ausschließlich bei den pathogenen Vertretern eines Genus oder den pathogenen Stämmen einer Spezies nachweisbar sein.
2. Die Inaktivierung der putativen Virulenzgene muß zu einer erkennbaren Abnahme der Pathogenität führen.
3. Die Wiedereinführung der ursprünglichen Gene muß die Pathogenität des Erregers wiederherstellen.

Pathogenität beschreibt die Gesamtheit der Eigenschaften eines Mikroorganismus, die es diesem erlauben, eine Infektion hervorzurufen. Sie ist die Folge der Wirkung von meist mehreren Pathogenitätsfaktoren, die in charakteristischer Weise von einem Mikroorganismus produziert werden und deren koordiniertes Zusammenwirken zur Infektion des Wirts führt. Dabei haben sie die Fähigkeit, sich an Wirtszellen anzuheften **(Adhärenz),** sich an der Eintrittspforte zu vermehren **(Kolonisation),** in den Wirtsorganismus einzudringen **(Invasivität)** sowie Zellen und Gewebe zu zerstören **(Toxizität).** Diese Faktoren besitzen zentrale Bedeutung für das Infektionsgeschehen.

Unter **Virulenz** versteht man das Ausmaß der Pathogenität eines bestimmten Krankheitserregers. Pathogenität ist folglich eine Spezieseigenschaft, während Virulenz das Merkmal eines Stammes ist. So gibt es beispielsweise Diphtheriebakterien, die kein Toxin bilden und daher avirulent sind. Die Virulenz eines Mikroorganismus wird, ähnlich wie die Toxizität eines Toxins, definiert als die Zahl von Bakterien, die notwendig ist, um 50% einer Gruppe infizierter Wirtsorganismen zu töten. Man bezeichnet dies als die Letale Dosis$_{50}$ oder LD_{50}.

Allgemeine Prinzipien der Pathogenität und Virulenz

Die am Infektionsgeschehen beteiligten mikrobiellen Faktoren lassen sich in die Adhäsine, Invasine, Evasine und Toxine einteilen.

Die mikrobielle Adhärenz an Zellen, extrazelluläre Matrixsubstanzen oder Sekrete sind für den Infektionsprozeß von zentraler Bedeutung, weil andernfalls die Mikroorganismen von Haut, Schleimhaut und Endothel wieder abgeschwemmt oder wegtransportiert werden. Die Adhärenz ist gleichzeitig die Vorbedingung und Vorbereitung für das Entstehen von Mikrokolonien und die anschließende Kolonisation. Die Bakterien verfügen daher über eine Reihe verschiedener, z.T. hochspezialisierter Adhäsine, die sensiblen Regulationsprozessen unterworfen sind (Tab. 1.1). Die Adhäsine sind entweder zellständig (nicht-fimbrielle Adhäsine) oder bilden die Kappe von z.T. 2–3 μm, langen, tentakelähnlichen Proteinanhängseln (Abb. 1.4), die im europäischen Schrifttum als *Fimbrien*, im amerikanischen Schrifttum als *Pili* bezeichnet werden.

Die Nomenklatur der Adhäsine ist historisch gewachsen und folgt daher keiner Einordnung in ein logisches System. Bei *Escherichia coli* sind die verschiedenen Adhäsine im Detail bekannt. Sie werden meist nach denjenigen Wirtszellstrukturen bezeichnet, an die sie binden. *P-Fimbrien* binden an das Disaccharid α-D-Galaktose-(1-4)-Galaktose, Bestandteil der Blutgruppensubstanz P, die auf Erythrozyten, aber auch auf Epithelzellen des Harntraktes vorkommt. Die *S-Fimbrien* hingegen erkennen sialylsäurehaltige Rezeptoren. Darüber hinaus gibt es M-Adhäsine, Dr-Adhäsine, Typ-1-Fimbrien und CFA-Adhäsine für colonization factor antigen. Typische uropathogene *E.-coli*-Stämme bilden in mehr als 90% P-Fimbrien, während *E. coli*-Stämme bei der neonatalen Meningitis mit S-Fimbrien versehen sind. Auch Gonokokken sind auf die Bildung von Fimbrien angewiesen, um pathogen zu sein. Daraus hatte sich die Vorstellung entwickelt, daß ein Fimbrien-basierter Impfstoff Schutz vor einer Gonorrhoe vermitteln müßte. Dieses Ziel ließ sich jedoch nicht erreichen, weil, wie molekulargenetische Studien zeigten, die Fimbrienbildung einer Phasenvariation unterworfen ist, also über einen genetischen Ein/Ausschalter reguliert wird. Darüber hinaus werden die antigenen Eigenschaften der Fimbrien durch homologe Rekombination verändert, so daß das durch eine Impfung aktivierte Immunsystem gleichsam ins Leere läuft.

Tab. 1.1 Bakterielle Adhäsine und Rezeptoren (modifiziert nach Domann)

Adhäsine	typische Beispiele
Lektine	Glykanbindungslektine von *Streptococcus sobrinus*
Fimbrien (Pili)	Filamentöse P-, S-, Typ 1, K88, K99 und CFA1-Fimbrien pathogener *Escherichia coli*-Stämme; Typ 4-Fimbrien von *Neisseria gonorrhoea*; Tcp-Fimbrien von *Vibrio cholerae*
Nicht-Fimbrien-Adhäsine	Pertactin von *Bordetella pertussis*; Fibronektin-Bindungsprotein von *Treponema pallidum*; Lipoteichonsäuren von *Streptococcus pyogenes*
Glykosamin-glykane	Heparansulfat-ähnliches Glykosaminglykan von *Chlamydia trachomatis*

Einige Adhäsine steuern auch Funktionen der Wirtszelle und bereiten die bakterielle Aufnahme in Zellen vor, indem sie an **Integrine** binden, die in der zellulären Kommunikation eine Rolle spielen (z.B. *Yersinia enterocolitica, Shigella flexneri*; Tab. 1.2). Auch grampositive Bakterien verfügen über Adhäsine. Hierbei handelt es sich beispielsweise um Lipoteichonsäure, einen Be-



Abb. 1.4 Fimbrielle und nicht-fimbrielle Adhäsine (modifiziert nach Salyers und Whitt).

Tab. 1.2 Bekannte Invasionsmechanismen (modifiziert nach DOMANN)

Bakterium	bakterieller Ligand	Wirtszellrezeptor	Bemerkungen
Yersinia enterocolitica	Invasin YadA	β_1-Integrine β_1-Integrine	„Zipper-Mechanismus"[1]; effizient weniger effizient als das Invasin
Listeria monocytogenes	Internalin A	E-Cadherin	„Zipper-Mechanismus"; effizient
Shigella flexneri	IpaB-D	$\alpha_5\beta_1$-Integrin?	„Trigger-Mechanismus"[2]; effizient
Salmonella Typhimurium	SipB-D	unbekannt	„Trigger-Mechanismus"; effizient
Neisseria gonorrhoeae	Opa/Opc	CD66a, CGM1	„Zipper-Mechanismus" ?; Invasion zur Überwindung von Epithelbarrieren durch Transzytose?

[1] „Zipper-Mechanismus": Die Wechselwirkung zwischen Ligand und Rezeptor führt in der Regel zur Aufnahme einzelner Bakterien

[2] „Trigger-Mechanismus": Durch die Induktion von Signaltransduktionsketten kommt es zu dramatischen Umorganisationen des lokalen Zytoskeletts, und induzierte Membranausstülpungen der Wirtszelle nehmen in der Regel mehrere Bakterien in einem Pinozytose-ähnlichen Prozeß auf

standteil der Zellwand, oder um Oberflächenmoleküle wie z.B. das M-Protein von *Streptococcus pyogenes*. Streptokokken, Staphylokokken, Enterokokken binden auch an extrazelluläre Matrixsubstanzen wie z.B. Fibronektin, was die Haftfähigkeit im Gewebe erklärt. An dieser Bindung sind bei *Staphylococcus aureus* das Fi-

tierten Mykobakterien und Legionellen) oder eine Art Reißverschlußsystem oder ein Triggermechanismus (Beispiele s. Tab. 1.2). Die Vermeidung der intrazellulären Bakterizidie erreichen Mikroorganismen z.T. dadurch, daß sie sich in atypischen Vakuolen aufhalten, die nicht mit den Lysosomen fusionieren (z.B. *Legionella* in

Häufig werden Exotoxine, Enterotoxine (s.u.) und Endotoxine verwechselt. Die grundlegenden Eigenschaften beider Toxingruppen sind in der Tab. 1.3 zusammengefaßt. Die verschiedenen Toxine zeigen eine sehr unterschiedliche und z.T. sehr spezifische Toxizität. Tetanus- oder Botulinus-Toxine sind bakterielle Proteine mit der höchsten Toxizität, die wir kennen. Schon 100 ng reichen aus, um einen Menschen zu töten und 1 g, um die gesamte Menschheit zu vernichten, wenn nicht das Verteilungsproblem wäre.

Exotoxine

Aufbau und Wirkmechanismus vieler Exotoxine sind dank der modernen Methoden der Zell-und Molekularbiologie im Detail gut bekannt (Tab. 1.4). Die Gene für Exotoxine sind entweder in temperenten Phagen (Scharlach-, Diphtherie- und Botulinustoxin), in Plasmiden (Staphylokokken-Enterotoxin und -Exfoliatin, *E.coli*-Enterotoxine) oder im bakteriellen Chromosom lokalisiert. Die Exotoxine sind häufig sehr effizient an den Infektionsprozeß adaptiert. So ist z.B. das Staphylokokken-Enterotoxin sehr resistent gegenüber Magen- oder Darmenzymen, so daß es bei oraler Aufnahme seine Toxizität nicht verliert. Eines der Botulismus-Toxine hingegen ist in der vom Bakterium sezernierten Form inaktiv, es muß zuvor von Enzymen des Magens oder Darmes aktiviert werden. Die Wirkung anderer Toxine ist daran gebunden, daß die entsprechenden Rezeptoren auf der Zelloberfläche vorhanden sind. So gibt es beispielsweise im Säuglingsalter kaum Fälle von pseudomembranöser Enterokolitis, weil das entsprechende Zytotoxin nur vom ausgereiften Darm aufgenommen wird. Umgekehrt gibt es einen Säuglingsbotulismus, der entsteht, wenn Säuglinge mit Honig gefüttert werden, der die Sporen von *Clostridium botulinum* enthält. Im Säuglingsdarm keimen diese Sporen aus und produzieren das Botulinus-Toxin. Im Erwachsenenalter hingegen bedarf es der Aufnahme des präformierten Botulinus-Toxins, um an Botulismus zu erkranken. Die Erkenntnis, daß es Exotoxine sind, die eine Infektionskrankheit verursachen, war die Basis für die Entwicklung von Impfstoffen, bei denen entweder das Toxoid als aktive Impfung oder spezifische Antikörper als passive Impfung verabreicht werden. Das **Toxoid** ist ein chemisch modifiziertes Toxin, welches nicht mehr toxisch, jedoch unverändert immunogen

Tab. 1.3 Eigenschaften von Exotoxinen und Endotoxinen

Exotoxine	Endotoxine
Sekretionsprodukte gram-positiver und -negativer Bakterien	Zellwandbestandteile gram-negativer Bakterien, die bei Zellteilung oder Zelltod freigesetzt werden
Polypeptide	Lipopolysaccharide, Lipid A-Teil für Toxizität verantwortlich
Relativ instabil, meist temperaturempfindlich (60° C)	über 2,5 h hitzestabil (100° C)
hoch immunogen, induzieren neutralisierende Antikörper	wenig immunogen, induzieren neutralisierende Antikörper
hochtoxisch, LD_{50} im Mikrogramm-Bereich	weniger toxisch, LD_{50} im Milligramm-Bereich
durch Formalin in nichttoxische, aber immunogene Toxoide umwandelbar (z.B. Diphtherie- oder Tetanus-Toxoid)	nicht in Toxoide umwandelbar
binden an spezifische Zell-Rezeptoren	bindet an CD14 Rezeptoren und an das LPS-bindende Protein
verursachen meist kein Fieber, Ausnahmen sind die Exotoxine mit Superantigenwirkung	induzieren neben anderen unspezifischen Effekten die Freisetzung von Interleukin 1 und 6 sowie Tumornekrosefaktor aus Makrophagen und verursachen Fieber
Synthese oft Plasmid- oder Phagen-kontrolliert	Synthese chromosomal kodiert

Tab. 1.4 Bakterielle Toxine

Toxin	Bakterienart	Wirkungsweise	Auswirkung in der Erkrankung
A-B-Typ			
Diphtherie-Toxin	*Corynebacterium diphtheriae*	ADP-ribosyliert den Wirtszell-Elongations-Faktor-2, beendet die Proteinsynthese	Schädigung des Herzmuskels und anderer Organe
Cholera-Toxin	*V. cholerae*	ADP-ribosyliert ein regulatorisches Protein der Wirtszelle und unterbricht dadurch die Kontrolle des cAMP[1]	wäßrige Durchfälle
Shiga-Toxin	*Shigella dysenteriae*	spaltet rRNA der Wirtszelle und beendet die Proteinsynthese	unklar
Tetanus-Toxin	*Clostridium tetani*	Endopeptidase-Aktivität beeinflußt die Kontrolle der Reizübertragung im Nervensystem	spastische Lähmung
Botulismus-Toxin	*Clostridium botulinum*	Endopeptidase-Aktivität beeinflußt die Kontrolle der Reizübertragung im Nervensystem	schlaffe Lähmung
Membranschädigung			
Listeriolysin	*Listeria monocytogenes*	porenbildendes Toxin	erlaubt den Bakterien aus phagozytischen Vakuolen zu entkommen
α-Toxin	*Clostridium perfringens*	Phospholipase	tötet Phagozyten, verursacht Gewebeschäden
Superantigen			
Toxic-Shock-Toxin (Toxic-Shock-Syndrom)	*Staphylococcus aureus* (grampositiv)	verstärkt Zytokin-Produktion von T-Zellen	Fieber und Schock

[1] cAMP, zyklisches AMP

ist, so daß es als Impfstoff eingesetzt werden kann.
Aufgrund ihrer biologischen Wirkungen lassen sich die Exotoxine in verschiedene Wirkgruppen einteilen, die im folgenden exemplarisch besprochen werden:

Membranschädigende Toxine

1. **Enzymatische Wirkung.** Das α-Toxin von *Clostridium perfringens* ist eine Phospholipase C, die das Lezithin der Zellmembran hydrolisiert und damit die Zelle abtötet (Abb. 1.5b). Es ist die Hauptursache für den oft tödlichen Ausgang des Gasbrandes.
2. **Physikalische Wirkung.** Das α-Toxin von *Staphylococcus aureus* führt zu einer funktionellen Pore der Wirtszellenmembran und dadurch zur Lyse der Zelle (Abb. 1.5a).
3. **Durch Thiolgruppen aktivierbare Zytolysine.** Diese Zytolysine (z.B. Streptolysin O, Pneumolysin, Tetanolysin, Listeriolysin und das theta-Toxin von *Clostridium perfringens)* sind sauerstofflabil, durch Cholesterin hemmbar, werden durch reduzierende Agenzien aktiviert und wirken auf Erythrozyten hämolysierend. Jedoch können sie auch andere Zellen schädigen.
4. **Andere membranschädigende Toxine.** Staphylokokken-β-Toxin (Hämolysin), Staphylokokken-γ-Hämolysin, Staphylokokken-Leukozidin, das O_2-stabile Streptolysin S der Streptokokken, α-Toxin von *Clostridium novyi.*

Neurotoxine

Zu den Neurotoxinen gehören die biologisch hochwirksamen Tetanus- und Botulinus-Toxine. Obschon die biologische Wirkung beider Toxine außerordentlich unterschiedlich ist, bestehen erhebliche Ähnlichkeiten. Bei beiden Toxinen handelt es sich um zinkabhängige Endopeptidasen, welche die Freigabe von Neurotransmittern unterbinden. Das Tetanustoxin blockiert inhibi-

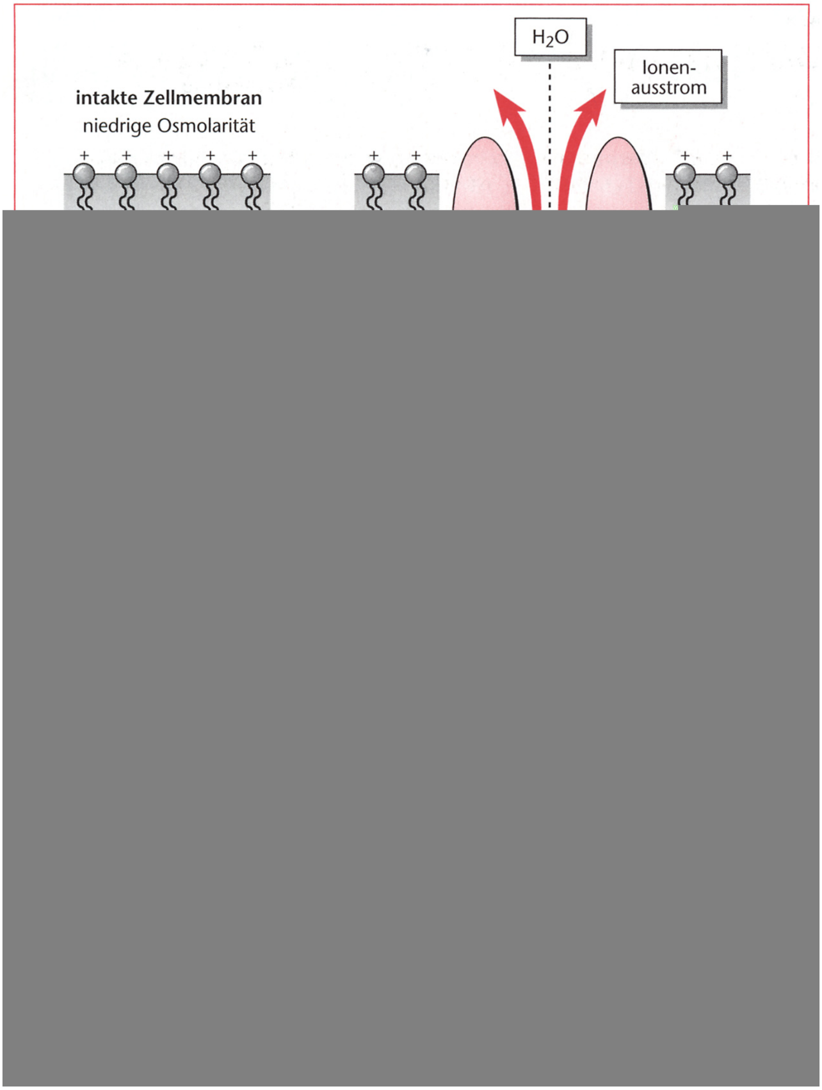
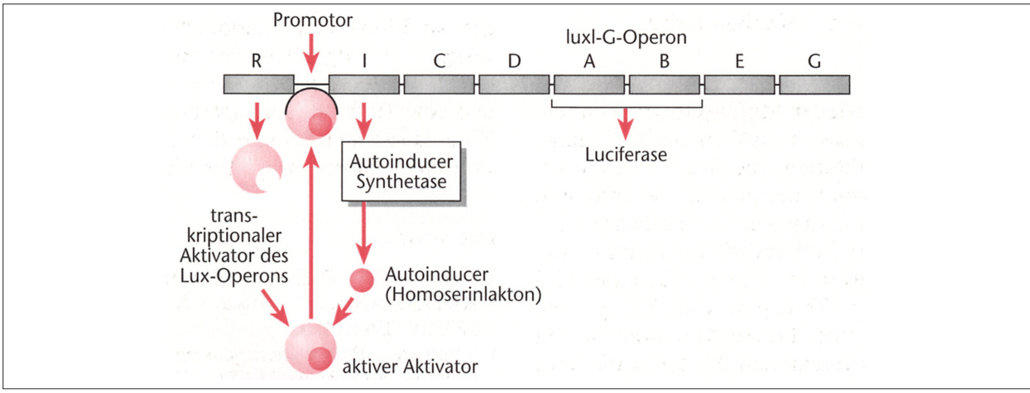


Abb. 1.5 a–b Wirkungsweise oberflächenschädigender Toxine. a) Einbau des Hämolysins beispielsweise von *Staphylococcus aureus* in die Zellmembran, Entstehung einer funktionellen Pore. b) Destabilisierung der Zellmembran durch Abspaltung von Phosphatresten der Phospholipide (modifiziert nach SALYERS und WHITT).

torische Zwischenneurone (RENSHAW-Zellen) im Rückenmark, was zu unkontrollierter Aktivierung der motorischen Vorderhornzellen führt. Die spezifische neurotoxische Wirkung besteht in der enzymatischen Inaktivierung des Synaptobrevin/Vesicular Associated Membrane Complex und damit in einer Blockierung der Freisetzung von Neurotransmittern über die Exozytose. Klinisch bewirkt dies eine spastische Kontraktion und tonisch-klonische Anfälle bei erhaltenem Bewußtsein.
Das Botulinus-Toxin inhibiert die Erregerübertragung an cholinergen Synapsen und führt daher zu schlaffen Lähmungen von Skelettmuskeln und zu einer Gleichgewichtsstörung zwischen dem sympatischen und dem parasympatischen Nervensystem. Das Botulinus-Toxin ist ein Neurotoxin, welches die Freisetzung von Azetylcholin verhindert. Es handelt sich um eine Metalloprotease, die in die Exozytose der neurotransmitterhaltigen Vesikel inhibierend eingreift.

Enterotoxine
Enterotoxine wirken auf Darmepithelien und führen zu einer verstärkten Sekretion von Flüssigkeit im Darm. Beispiele für Enterotoxine sind das Cholera-Toxin, Enterotoxine von *Staphylo-*


Promotor
luxI-G-Operon
R
I
C
D
A
B
E
G
Luciferase
Autoinducer Synthetase
trans-kriptionaler Aktivator des Lux-Operons
Autoinducer (Homoserinlakton)
aktiver Aktivator

Sekretionssysteme – Biochemischer Cross-talk

Neben den bakteriellen Stoffwechselprodukten, die toxische Wirkungen ausüben, besitzen einige gramnegative Bakterien eine Gruppe von sezernierten Pathogenitätsmerkmalen, die genetisch häufig in Clustern, sogenannten **Pathogenitätsinseln,** organisiert sind und als Sekretionssysteme bezeichnet werden. Unter Sekretion wird hierbei der aktive Transport vom Zytoplasma über die innere und äußere Membran in den Kulturüberstand verstanden. Proteine, die über den Typ-II- und den Typ-IV- Sekretionsweg transportiert werden, besitzen eine ca. 30 Aminosäuren lange, meist hydrophobe Signalsequenz, die von einer periplasmatischen Peptidase abgespalten wird und den Proteintransport durch die innere Membran unterstützt. Der Proteintransport ist energieabhängig und erfordert zahlreiche akzessorische Proteine. Typisch für das Typ-IV-System ist, daß im Gegensatz zum Typ-II-System alle Informationen, die für den Transport durch die äußere Membran erforderlich sind, bereits auf dem sezernierten Protein enthalten sind. Es wird daher auch als Autotransporter bezeichnet. Über diesen Weg werden beispielsweise die Gonokokken-Protease (IgG-Protease) und ein Toxin von *Helicobacter pylori* sezerniert. Die Sekretion über den Typ-I-Weg erfordert keine proteolytische Spaltung des Proteins, sie benötigt insgesamt auch nur drei Proteine: ein Protein für den Transport durch die innere Membran (inner membrane transport ATPase), ein Protein der äußeren Membran und ein Membranfusionsprotein, welches den periplasmatischen Spalt überbrückt. Typ-III-Sekretionssysteme sind, ebenso wie das Typ-I-Sekretionssystem, nicht auf eine periplasmatische Peptidase angewiesen, außerdem ist eine sekretorische Signalsequenz nicht erkennbar. Der Sekretionsapparat besteht aus ca. 20 Proteinen, die in der inneren Membran lokalisiert sind und Homologien mit dem Flagella-Biosynthesesystem aufweisen. Proteine, die auf dem Typ-III-Sekretionsweg sezerniert werden, sind offensichtlich dazu gedacht, daß sie direkt in das Zytoplasma der Wirtszelle transloziert werden, wo sie in die zelluläre Signaltransduktion eingreifen, immunologische Funktionen stören, eine Reorganisation [illegible] gen, sind Yersinien, Salmonellen, *Pseudomonas aeruginosa*, möglicherweise auch die obligat intrazelluläre Bakterienart *Chlamydia trachomatis* und eine Reihe pflanzenpathogener Bakterien. Eine Zusammenstellung der mikrobiellen Abwehrmechanismen zeigt Tabelle 1.5.

Literatur

DOMANN, E.: Pathogenitätsfaktoren bakterieller Krankheitserreger. Dtsch. Med. Wochenschr. 123:229–236 (1998).

GREENBERG, P.: Quorum sensing in Gram-negative bacteria. ASM News 63: 371–377 (1997).

HUECK, C. J.: Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62:379–433 (1998).

MOCHMANN, H., und W. KÖHLER:. Meilensteine der Bakteriologie. 2. Aufl., Wötzel, Frankfurt/M 1997, pp. 300, 324ff.

SALYERS, A. A., and D. D. WHITT: Bacterial Pathogenesis. American Society for Microbiology, Washington, USA, 1997.

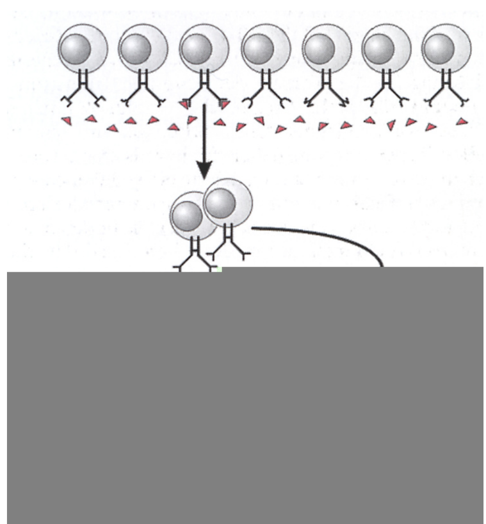
1.2 Prinzipien der immunologischen Infektabwehr

BERNHARD FLEISCHER,
BARBARA M. BRÖKER

1.2.1 Das Immunsystem

Vielzeller sind eine attraktive Umwelt für Mikroorganismen. Die komplexen Organismen investieren einen Großteil ihrer Energie in die Homöostase, die Aufrechterhaltung des inneren Milieus mit seinen konstanten Parametern wie z.B. Temperatur, pH-Wert, Osmolarität und Angebot an Nährstoffen. Für Mikroorganismen ist die Anpassung an diese stabile Umgebung einfacher als Überleben und Vermehrung unter den stark wechselnden Bedingungen in der freien Natur. Um ihre Integrität zu wahren und den Befall durch Mikroorganismen auf ein verträgliches Maß zu beschränken, haben die vielzelligen Wirtsorganismen ein breites Spektrum von Abwehrmechanismen entwickelt. Hierbei lassen sich Mechanismen der **angeborenen Resistenz** von solchen der **adaptiven Immunität** unter-

1



in ihrer Antigen-Spezifität. In der Regel binden sie nur an einen kleinen Bereich der antigenen Moleküle, die **antigenen Determinanten** oder **Epitope.** Mit Hilfe der großen Populationen der antigen-spezifischen Zellen kann das Immunsystem feine Unterscheidungen zwischen verschiedenen Antigenen treffen, hierauf beruht die **Spezifität** der adaptiven Immunantwort. Die **Adaptivität** entsteht durch vielfältige Veränderungen, welche beim ersten Kontakt mit einem Antigen im Verlauf der **primären Immunantwort** eingeleitet werden. Sie führen dazu, daß

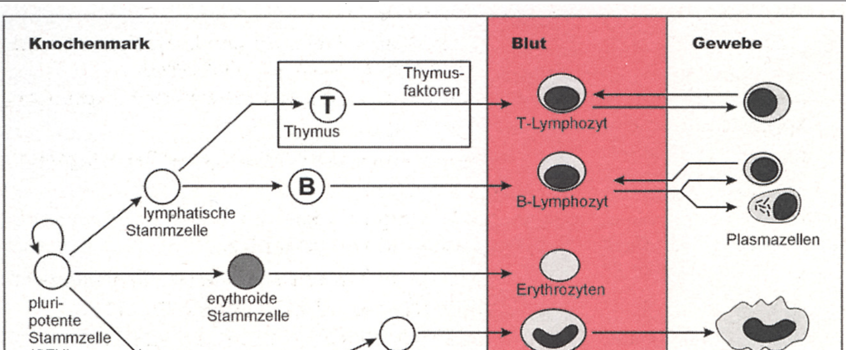
nativer Form. Wichtig ist besonders die 3-dimensionale Struktur ihrer Epitope. Diese können chemisch sehr heterogen sein, Proteine, Zucker, Lipide u.a. Niedermolekulare, lösliche Moleküle, welche ein B-Zellepitop bilden und von Antikörpern spezifisch gebunden werden können, sind meist nicht in der Lage, eine Immunantwort auszulösen. Solche „unvollständigen" Antigene werden als **Haptene** bezeichnet. Erst nach chemischer Kopplung an einen Träger (*Carrier)*, meist ein großes Protein, können Haptene eine Anti-

körper, welche dasselbe Molekül binden, bilden einen „cluster of differentiation“ **(CD).** Diese Cluster werden fortlaufend numeriert. Das durch den Antikörper-Cluster charakterisierte Oberflächenmolekül bekommt als „cluster determinant“ dieselbe CD-Nummer. Die CD-Nomenklatur für Leukozyten-Oberflächenmoleküle hat die Verständigung unter den Immunologen stark vereinfacht. Sie wird deshalb auch in diesem Kapitel verwendet (Tab. 1.6).

de System rekonstituieren. Aus den Stammzellen entwickeln sich spezialisiertere Stammzellen, welche ein begrenztes Differenzierungspotential aufweisen, die myeloischen Vorläuferzellen und lymphoiden Vorläuferzellen (Abb.1.12).

Zellen der nicht-adaptiven Resistenz

Die Zellen der nicht-adaptiven Resistenz entstammen fast alle der myeloischen Reihe. Es ist bemerkenswert, daß T-Lymphozyten, die Bil-



4. **Basophile Granulozyten** und
5. **Mastzellen** kommen im Bindegewebe und den Schleimhäuten vor, sezernieren vasoaktive Substanzen und sind u.a. wichtig für den Schutz der Schleimhäute.
6. **Interdigitierende dendritische Zellen,** oft einfach „dendritische Zellen" (DC) genannt, befinden sich besonders in den T-Zellarealen der lymphatischen Organe. Vorläufer dieser Zellen sind in fast allen Organen zu finden; die in der Haut nachweisbar sind die *Langerhans-Zellen*. Die Vorläufer nehmen Antigen auf, wandern in die lymphatischen Organe und präsentieren es dort T-Zellen. DC sind weitaus am besten in der Lage, T-Zellen zu aktivieren; sie sind „professionelle" Antigenpräsentierende Zellen (APC). Sie tragen CD80 und MHC-II-Moleküle (s. Kap. 1.2.7).
7. **Follikuläre dendritische Zellen (FDC)** befinden sich in den Keimzentren der peripheren lymphatischen Organe. Sie binden dort Antigen/Antikörperkomplexe und präsentieren die Antigene den B-Zellen. Follikuläre dendritische Zellen stammen nicht aus dem Knochenmark wie die DC, sondern sie sind wahrscheinlich mesenchymalen Ursprungs.
8. **Natural-Killer-Zellen (NK-Zellen)** sind große granuläre Lymphozyten. Sie spielen eine wichtige Rolle in der Frühphase von Virusinfektionen und bei der Abwehr von Tumorzellen. Sie tragen CD2 und CD16, aber keinen TcR und nicht CD3.

Zellen der adaptiven Immunantwort

Die Träger der adaptiven Immunreaktion sind die B- und T-Lymphozyten. Im Blut erscheinen sie als kleine, ruhende Lymphozyten, welche man ohne Bestimmung der Oberflächenmarker nicht voneinander unterscheiden kann.

1. ***B-Zellen*** entstehen in der fötalen Leber und im Knochenmark (bei Vögeln in einem speziellen Organ, der **Bursa**), sie tragen Immunglobulin (Ig) auf ihrer Oberfläche und können nach ihrer Differenzierung zu **Plasmazellen** Antikörper sezernieren, die Effektormoleküle der spezifischen humoralen Immunität. Sie sind erkennbar am Oberflächen-Ig, tragen MHC-II-Moleküle und spezifische Marker wie CD19, CD20, CD40. Eine Subpopulation von B-Lymphozyten exprimiert zusätzlich das CD5-Molekül (sog. *B1-Zellen*). Diese Zellen scheinen sich in einer separaten Linie zu entwickeln und im Gegensatz zu normalen B-Lymphozyten zur Selbsterneuerung fähig zu sein. Die von B1-Zellen produzierten Antikörper, üblicherweise nur vom IgM-Typ, reagieren präferentiell mit mikrobiellen Antigenen wie Polysacchariden oder Phosphorylcholin. Die Funktion der CD5-positiven B-Zellen ist noch unklar. Manche von ihnen produzieren Antikörper gegen Autoantigene. Chronisch-lymphatische B-Zell-Leukämien scheinen vorwiegend von diesen Zellen zu stammen.
2. ***T-Zellen*** reifen im Thymus, sie sind $CD2^+$, $CD3^+$, TcR^+. Die meisten T-Zellen tragen einen TcR aus α- und β-Kette auf ihrer Membran. Zu ihnen gehören die $CD4^+$ T-Helferzellen, welche die adaptive Immunantwort steuern, und die $CD8^+$ zytotoxischen T-Zellen, welche als Effektoren der adaptiven zellulären Immunantwort infizierte Zellen lysieren können. Alle T-Zellsubpopulationen üben auch wichtige Regulatorfunktionen durch die Sekretion von Zytokinen aus. Eine Subpopulation von etwa 5% besteht aus Zellen mit einem TcR aus γ- und δ-Ketten, diese $\gamma\delta$-Zellen spielen eine Rolle in der Frühphase der Infektabwehr (s. Kap. 1.2.8).

1.2.3 Anatomie des Immunsystems

Das Immunsystem besteht überwiegend aus beweglichen Zellen, die im Blut und in fast allen Geweben zirkulieren. Hierdurch wird sichergestellt, daß Erreger, welche meist über die Körperoberflächen in den Organismus eindringen, vom Immunsystem sofort wahrgenommen werden. Bei einer Immunreaktion müssen jedoch viele verschiedene Zell-Populationen zusammenwirken; diese komplexen Kommunikationsvorgänge finden in spezialisierten lymphatischen Organen statt. Man unterscheidet *zentrale* und *periphere* lymphatische Organe. In den zentralen lymphatischen Organen reifen die Lymphozyten, Phagozyten und dendritischen Zellen, die peripheren lymphatischen Organe sind die Schaltstellen der adaptiven Immunität. Zu den zentralen lymphatischen Organen gehören das Knochenmark (beim Fötus die Leber als blutbildendes Organ) und der Thymus. Im Knochenmark entstehen die meisten Zellen des Immunsystems aus Stammzellen; die B-Zellen reifen hier auch. Dagegen können T-Zellen nur in einem spezialisierten Organ, dem Thymus, differenzieren (s. Kap. 1.2.7). Zu den peripheren lymphatischen Organen gehören die Lymphknoten,

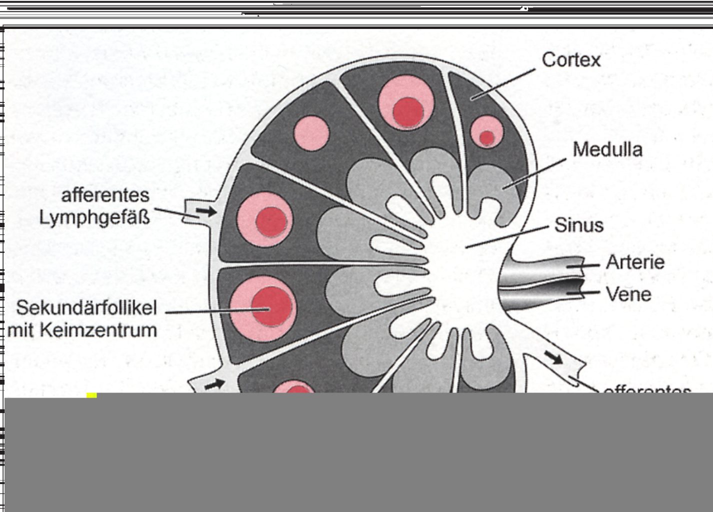
die Milz und das Mucosa-assoziierte lymphatische Gewebe: Tonsillen, Peyersche Plaques und Appendix. Hier treffen die migratorischen Zellpopulationen des Immunsystems mit Antigen und residenten Zellen zusammen und orchestrieren die Immunantwort.

Lymphknoten

Aus den Epitheloberflächen der Haut, der Atemwege und des Verdauungstrakts sowie aus den meisten soliden Organen wird die Extrazellulärflüssigkeit durch ein Netz von Lymphgefäßen drainiert. Die Lymphe transportiert dabei Antigene und Zellen des Immunsystems zu den Lymphknoten (Abb. 1.13). Lymphknoten sind kleine, von einer Bindegewebskapsel umgebene Organe, welche sich in Größe und Aufbau dynamisch an die Anforderungen der Immunantwort anpassen können. Dabei halten sie jedoch eine regelmäßige Organisation aufrecht. Die Lymphgefäße münden in einen Randsinus, der sich direkt unter der Kapsel des Lymphknotens befindet. Von hier sickert die Lymphe von außen erst durch den Cortex und danach durch die Medulla, bevor sie den Lymphknoten durch ein zentrales efferentes Lymphgefäß verläßt. Lymphknoten besitzen eine eigene Blutversorgung mit

knoten einwandern. So können Lymphozyten sowohl aus den Geweben als auch aus dem Blut in die Lymphknoten gelangen. Im Cortex der Lymphknoten befinden sich die B-Zell-Areale: primäre B-Zellfollikel, in denen sich ruhende B-Zellen und follikulär-dendritische Zellen aufhalten, und die wesentlich größeren sekundären B-Zellfollikel, welche im Verlauf einer Immunreaktion entstehen und nach einigen Wochen wieder verschwinden. Sekundäre Follikel enthalten Keimzentren, hochorganisierte dynamische Strukturen mit starker B-Zellaktivierung und -proliferation. Hier treten aktivierte B-Zellen in intensiven Kontakt mit Antigen auf follikulär-dendritischen Zellen und mit antigenspezifischen T-Zellen. Dabei reift die Antikörperantwort (s. Kap. 1.2.4). Terminal differenzierte B-Zellen, welche Antikörper sezernieren (Plasmazellen), halten sich meist in der Medulla auf. Außerhalb der B-Zellfollikel, im parafollikulären Cortex sowie in der Medulla, findet man bevorzugt T-Zellen. Sie haben dort engen Kontakt mit einem dichten Netzwerk aus interdigitierenden dendritischen Zellen (DC) und Makrophagen.

Milz



1

den Ductus thoracicus münden. Mit dem Lymphstrom gelangt die aktivierte T-Zelle nun über die Vena subclavia in den Blutkreislauf zurück. In Reaktion auf den Antigenkontakt hat sie ihre Ausstattung mit Homing-Rezeptoren verändert. Jetzt kann sie an das Epithel von Kapillaren binden und in das Gewebe auswandern. Trifft die aktivierte T-Zelle dort wieder auf ihr Antigen, übt sie für eine bestimmte Zeit ihre Effektorfunktionen aus. Danach folgt sie dem Lymphstrom, welcher sie durch ein afferentes Lymphgefäß wieder in einen Lymphknoten trägt. Auch T-Zellen, welche in der Peripherie ihr Antigen nicht finden, kehren regelmäßig in einen Lymphknoten zurück.
Wenn Lymphozyten mit dem arteriellen Blut in die Milz gelangen, werden sie nach Passage der Arteriolen in die Milzsinus gespült. Von hier aus können sie in die periarteriolären lymphatischen Scheiden (weiße Pulpa) einwandern. Dort werden ihnen auf dendritischen Zellen Antigene präsentiert, welche aus dem Blut stammen. Aus der weißen Pulpa migrieren die Lymphozyten zurück in die Milzsinus und gelangen durch die Milzvenen wieder in den zentralen Blutkreislauf.

1.2.4 Humorale Abwehrmechanismen

Die humorale Abwehr wird durch lösliche Mo-

plementsystem, das direkt durch Bakterienoberflächen aktiviert werden kann. Neben der Lyse des Erregers durch Porenbildung in seiner Membran führt die Komplementaktivierung zur Opsonisierung der Erreger.
Der humorale Arm der adaptiven Immunität besteht aus den Antikörpern, die von B-Lymphozyten und Plasmazellen sezerniert werden. Bindung dieser Antikörper an Erreger löst verschiedene Effektormechanismen aus, viele werden durch T-Zellen vermittelt. Diese sind wichtige Schnittstelle zwischen dem humoralen und dem zellulären Arm der Immunabwehr.

Antikörper

Antikörper (Immunglobuline, Ig) kommen in hoher Konzentration löslich in der Extrazellulärflüssigkeit und im Serum vor. Sie sind das Substrat des humoralen Arms der adaptiven Immunität. Als ein typischer Vertreter soll zuerst das IgG-Molekül vorgestellt werden (Abb.1.14). Es handelt sich beim IgG um ein Heterotetramer bestehend aus zwei gleichen Dimeren aus jeweils einer leichten L-Kette (ca. 24 kD) und einer schweren H-Kette (ca. 55 oder 70 kD). Es gibt zwei Typen von leichten Ketten: κ-Ketten, welche beim Menschen auf etwa 80% der Antikörper vorkommen, und λ-Ketten, welche die restlichen 20% ausmachen. Schwere und leichte Kette sowie die beiden schweren Ketten sind



1

Hexamer, die einzelnen Monomere durch eine J-Kette (joining-chain) verbunden (Abb. 1.15). Lösliches IgM hat also 10 oder 12 Antigenbindungsstellen, und es bindet deshalb multivalente Antigene mit besonders hoher Avidität. IgM ist zu groß, um die Plazenta zu passieren. Dies ist ein Grund dafür, daß eine Erstinfektion der Mutter in der Schwangerschaft oftmals ein besonders hohes Risiko für den Föten mit sich bringt. IgM im Serum von Föten und Neugeborenen ist von diesen selbst gebildet und gibt deshalb einen Hinweis auf eine konnatale Infektion. IgM interagiert mit verschiedenen angeborenen Resistenzmechanismen: Ein einziges gebundenes IgM-Molekül kann bereits Komplement aktivieren. Dadurch kann IgM auch sehr effizient opsonisieren, d.h. die Phagozytose stimulieren.

IgD kommt auf der B-Zellmembran der reifen B-Lymphozyten zusammen mit IgM als Rezeptor vor und ist dort ein wichtiger Regulator. Es wird praktisch nicht löslich abgegeben.

IgG ist das häufigste Immunglobulin im Serum (ca. 15 mg/ml). IgG wird nach einer Erstinfektion später gebildet als IgM, denn es kommt auf naiven B-Zellen nicht vor. Als einziger Isotyp passiert IgG die Plazenta und hat deshalb eine wichtige Funktion beim Schutz des Föten und Neugeborenen vor Infektionen. Bei ungünstigen Konstellationen, z.B. bei Rhesusinkompatibilität zwischen Mutter und Kind, kann der Fötus durch mütterliches IgG jedoch auch geschädigt werden. Die Serumkonzentrationen und Effektorfunktionen der verschiedenen IgG-Subklassen unterscheiden sich stark voneinander (Tab. 1.7).

Gegen Proteine werden vorwiegend Antikörper der IgG1- und IgG3-Subklassen aber auch IgG4 produziert. Gegen Kohlenhydrat-Antigene werden besonders IgG2- (und auch IgG4) Antikörper gebildet, allerdings erst im zweiten Lebensjahr. Ein selektiver Mangel an Immunglobulin der IgG2- und IgG4-Subklasse ist nicht selten. Für diese Individuen sind ebenso wie für Klein-

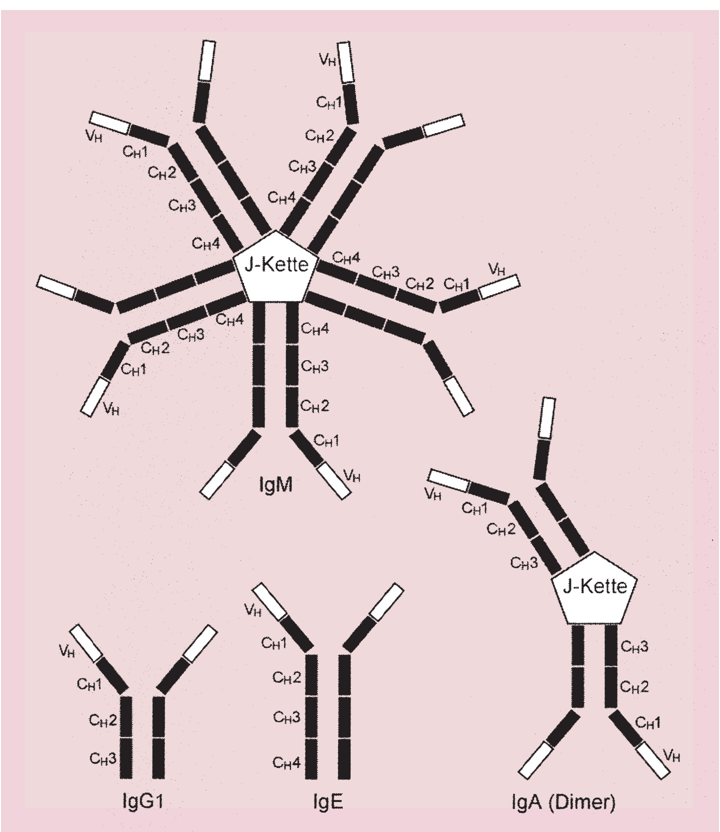


Abb. 1.15 Schematische Struktur unterschiedlicher Immunglobulin-Isotypen. Die leichten Ketten sind nicht mitgezeichnet.

Tab. 1.7 Eigenschaften von Immunglobulinisotypen des Menschen

	Serumkonz. (mg/ml)	Halbwertzeit (Tage)	Valenz	Bindung an C1q	Bindung an CD16	Opsonisierung
IgM	1.5	10	10, 12	+++	–	+++ (über Komplement)
IgG_1	8	22	2	++	+++	++
IgG_2	4	22	2	(+)	–	+
IgG_3	0.8	8	2	++	+++	+
IgG_4	0–4	22	2	–	+	+
IgA_1	3	6	2, 4, (6)	–	–	+
IgA_2	0.5	6	2, 4, (6)	–	–	+
IgD	0.03	2–8	2	–	–	–
IgE	0.0003	1–5	2	–	–	–

–: keine Bindung; (+): schwache Bindung; + bis +++: zunehmende Bindungsstärke

kinder Infektionen mit Kapsel-tragenden Bakterien besonders gefährlich. IgG4 wird auch besonders in allergischen Situationen und bei Wurmerkrankungen gegen Proteine gebildet. Mit den angeborenen Resistenzmechanismen kann IgG auf zwei Arten zusammenwirken: Erstens aktivieren die Subklassen IgG1 und IgG3 die Komplementkaskade sehr effizient, und zweitens besitzen Phagozyten und NK-Zellen spezifische Rezeptoren für IgG (Fcγ-Rezeptoren), so daß diese Zellen durch gebundenes IgG aktiviert werden.

IgA ist das häufigste Immunglobulin überhaupt. Im Serum stellt es zwar nur etwa 15% der Antikörper dar, aber es wird in großen Mengen auf die Schleimhautoberflächen sezerniert und verhindert dort die Adhärenz von Bakterien. So kommt IgA in hoher Konzentration auf den Schleimhäuten der Atemwege, des Verdauungstraktes, im Speichel, in der Tränenflüssigkeit und in der Milch vor. Die dominante Form von IgA im Serum sind Monomere (80%), aber IgA kann mit Hilfe einer J-Kette auch Dimere bilden. Diese Dimere werden bevorzugt sezerniert

oberfläche, immer noch gebunden an ein 70 kD Fragment des Poly-Ig-Rezeptors, die *sekretorische Komponente*. IgA kann Komplement über den alternativen Weg aktivieren und über spezielle Fcα-Rezeptoren an die Oberfläche von Makrophagen binden.

IgE kommt im Serum nur in Spuren vor. Es wird von Mastzellen und basophilen Granulozyten mit sehr hoher Affinität an Fcε-Rezeptoren gebunden und so aus dem Serum entfernt. Bindung von Antigen an das gebundene IgE stimuliert dann diese Zellen zur Exozytose von vorgeformten Granula, und es kommt zur Ausschüttung von Histamin und anderen Mediatoren sowie von biologisch aktiven Proteinen. Dieser Mechanismus spielt eine wichtige Rolle bei der Abwehr von Parasiten und in der Pathogenese von allergischen Erkrankungen. Bei diesen Erkrankungen ist IgE im Serum erhöht.

Effektorfunktionen der Antikörper

Wesentliche Schutzfunktionen der Antikörper werden durch die reine Bindung an Antigene vermittelt. Die am längsten bekannte Wirkung

Hyaluronidase, Proteinasen, Desoxyribonukleasen, gegen die ebenfalls funktionshemmende Antikörper gebildet werden können.

Die spezifische Aktivierung des klassischen Weges des Komplementsystems durch den Fc-Teil ist ein wichtiger Abwehrmechanismus gegen extrazelluläre Infektionserreger. Sie führt einerseits zur Lyse des Mikroorganismus durch Porenbildung, zum anderen aber zur Opsonisierung als erleichterte Phagozytose. Der Fc-Teil des Antikörpers kann auch zelluläre Mechanismen in Gang setzen. Diese Mechanismen werden bestimmt von der Verteilung von Fc-Rezeptoren auf verschiedenen Effektorzellen, sie führen zur Aufnahme von Antikörper-bedeckten extrazellulären Erregern in Phagozyten oder zur Abtötung oder Schädigung von Erregern durch entsprechend armierte Zellen (Tab. 1.8).

Eine durch Antikörper erleichterte Phagozytose durch neutrophile Granulozyten und Makrophagen ist ein wichtiger Mechanismus zur Ab-

Aktivierung von Mastzellen, eosinophilen und basophilen Granulozyten über den hochaffinen Rezeptor für IgE. Die Zellen werden aktiviert, den Inhalt ihrer Granula freizusetzen und so Parasiten zu schädigen oder eine Entzündungsreaktion auszulösen.

B-Lymphozyten

Als Teil der adaptiven Immunität ist die Antikörperantwort hoch spezifisch für die Antigene, mit denen der Organismus sich auseinandersetzt. Dabei ist die Flexibilität des Immunsystems erstaunlich: selbst gegen künstliche Materialien, denen die Spezies in der Evolution niemals begegnet sein kann, können spezifische Antikörper gebildet werden. Das Immunsystem scheint auf das Unvorhersehbare vorbereitet zu sein. Tatsächlich wird vom Immunsystem bereits vor jedem Kontakt mit Antigen eine sehr große

reger muß die Antikörperantwort schneller, intensiver und mit höherer Affinität erfolgen.
4. Mit dem großen Repertoire der Antikörperspezifitäten entsteht auch eine große Gefahr: Das Antikörperrepertoire wird unabhängig vom Antigenkontakt angelegt. Dabei ist nicht zu verhindern, daß Spezifitäten entstehen, welche an Epitope des Organismus selbst binden: *autoreaktive Antikörper*. Solche Antikörper gefährden den Organismus; ihre Produktion muß verhindert werden, damit die Selbsttoleranz erhalten bleibt.

Die Kontrolle der Antikörperantwort wird durch Regulation ihrer Produzenten, der B-Zellen, ermöglicht. Wenn die Antikörper auf der B-Zelloberfläche an ihre Epitope binden, erhalten die B-Zellen Signale, die Wachstum, Differenzierung zu Antikörper-sezernierenden Plasmazellen, Klassenwechsel oder auch den Tod der B-Zelle zur Folge haben können. Aus dem Konzert der Reaktionen individueller B-Zellen auf ihre Antigene entsteht so die Antikörperantwort.

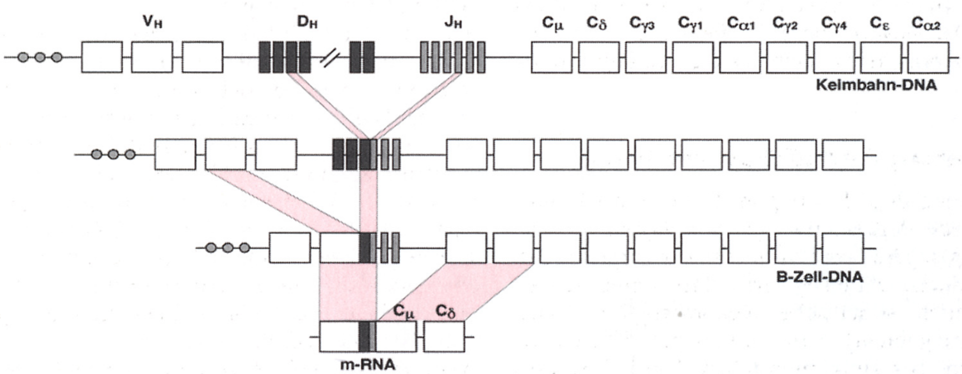
Entstehung des Antikörperrepertoires

Während ihrer Reifung im Knochenmark muß sich jede B-Zelle auf eine Antikörperspezifität festlegen. Die Gene für ihren Antikörper findet sie jedoch nicht fertig vor; vielmehr muß sie diese durch somatische Rekombination (oder Rearrangement) von verschiedenen Genelementen erst zusammenstellen. Hierbei werden bei dem Zusammenbau der schweren Kette je ein V („variable")-, ein D („diversity")- und ein J („joining")-Element zufällig ausgewählt und zusammengefügt (Abb. 1.16). Bei den leichten Ketten fehlen die D-Elemente. Die rekombinierten V, D und J-Elemente kodieren für die variable Domäne der Antikörper. Auf RNA-Ebene wird dieser Genabschnitt an das jeweilige C-Element angesetzt („gespleißt"), die für die

mente ist nicht präzise; durch Leserasterverschiebungen ergeben sich neue Aminosäuresequenzen. Außerdem fügt das Enzym terminale Desoxyribonukleotidyl-Transferase nach einem Zufallsprinzip an den Verknüpfungsstellen weitere Basen ein. Hierdurch entstehen Nukleotidsequenzen *(N-Regionen)*, welche auf der DNA nicht vorhanden waren.
2. Nachdem das Rearrangement beendet ist, kann der Antikörper eines B-Lymphozyten im Laufe der Immunantwort in der Peripherie noch weiter reifen. Hierbei werden im variablen Teil der rearrangierten DNA Punktmutationen *(somatische Mutationen)* eingefügt. Diese Mutationen werden insbesondere in den hypervariablen Regionen gefunden, welche die Kontaktpunkte mit dem antigenen Epitop sind; sie erhöhen die Affinität des Antikörpers.
Zwar spielt der Zufall eine große Rolle bei der Erzeugung des Antikörperrepertoires, aber trotzdem handelt es sich um einen geordneten Prozeß. Damit die Spezifität der Antikörperantwort über die Aktivität der B-Zellen reguliert werden kann, muß gewährleistet sein, daß jede individuelle B-Zelle nur eine Antikörperspezifität ausbildet. Sie hat aber zwei Genloci für schwere und vier Genloci für leichte Ketten. Mechanismen des *Allelausschlusses* (allelic exclusion) verhindern, daß eine B-Zelle mehr als eine Antikörper-Spezifität produziert.
Allerdings kann die Rekombination der leichten Kette wieder aufgenommen werden *(Rezeptor-Edition)*, wenn der entstandene B-Zellrezeptor den Anforderungen nicht genügt, weil er z.B. ein Autoantigen bindet. Bei der Rezeptor-Edition wird eine bereits rearrangierte κ-Kette erneut rearrangiert. Ist dies unmöglich oder nicht erfolgreich, wird das zweite κ-Allel oder sogar eine λ-Kette rearrangiert. Schlagen alle Versuche fehl und kann die B-Zelle endgültig keinen

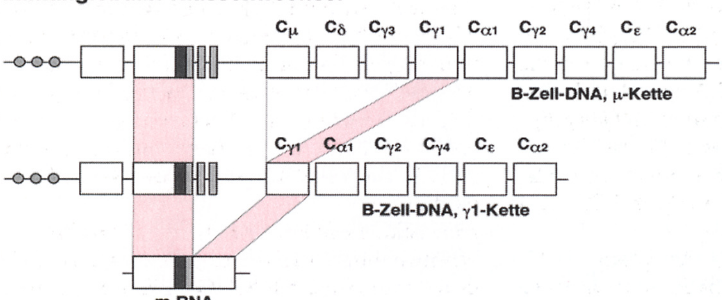


Rearrangement der schweren Immunglobulin-Kette



b)

Immunglobulin-Klassenwechsel



c)

für die Aktivierung von C1 bereitstellen, für IgG ist eine relativ hohe Beladung nötig, um die erforderliche Nähe der Moleküle zu gewährleisten.

C1 ist ein multimolekularer Komplex von etwa 750 kD. Es besteht aus C1q, der Bindeeinheit, und jeweils 2 Proenzymen C1r und C1s. C1q seinerseits besteht aus 6 identischen Heterotrimeren, welche über ihre Collagen-ähnlichen Tripelhelices multimerisieren und mit ihren globulären Domänen an Immunglobuline binden. Wenn C1q eine multivalente Bindung eingeht, bewirkt dies eine Konformationsänderung, welche sich den Proenzymen mitteilt. Diese werden jetzt durch autokatalytische Proteolyse aktiviert, und sie spalten dann weitere lösliche Komponenten des Komplementsystems, die C2 und C4 genannt werden. Die Spaltprodukte C2b und C4b binden kovalent an die Erregeroberfläche und bilden gemeinsam die C3-Konvertase, welche schließlich C3 durch Proteolyse aktiviert. Es gibt noch weitere Möglichkeiten, C1r und C1s zu aktivieren, z.B. durch C-reaktives Protein oder bestimmte Lektine.

Beim **Lektinweg** führt die Anlagerung des Mannan-bindenden Lektins (eines Akut-Phase-Proteins) zur Aktivierung von spezifischen Serumproteasen, welche die Komplementkomponenten C2 un C4 proteolytisch zu einer C3-Konvertase aktivieren.

Der **alternative Weg** der Komplementkaskade wird durch eine langsame spontane Aktivierung von C3 auf mikrobiellen Zelloberflächen ausgelöst. Es entsteht oberflächengebundenes C3b, welches das lösliche Komplementprotein Faktor B bindet und dessen Spaltstelle für Faktor D exponiert. Faktor D ist eine Protease, welche in sehr geringer Konzentration im Plasma vorkommt und bereits spontan aktiv ist. Das Produkt dieser Protease, Bb, bildet gemeinsam mit C3b die C3-Konvertase des alternativen Wegs. Die C3-Konvertase spaltet C3 zu C3a und C3b, so daß eine positive Rückkopplung entsteht.

Aktivierung von C3 leitet die Bildung der Membranporen ein, des **lytischen Komplexes.** Durch Assoziation von C3b mit den C3-Konvertasen (C2bC4b aus dem klassischen Weg, C3bBb aus dem alternativen Weg) entstehen C5-Konvertasen, welche C5 zu C5a und C5b spalten. C5b bleibt zunächst mit seiner Konvertase assoziiert und rekrutiert C6, C7 und C8 aus dem Plasma. C7 und C8 verankern dann diesen Komplex durch lipophile Ketten stabil in der Zellmembran. Dieser Komplex kann bereits manche Zellen lysieren; besonders effektiv wird er aber durch die Rekrutierung von mehreren Einheiten von C9, welche in der Zellmembran polymerisieren und dadurch eine Pore bilden, welche die Doppelmembran durchspannt. Faktor C9 hat Ähnlichkeit mit Perforin, welches zum Arsenal zytotoxischer Zellen gehört und auf der Zielzelle ebenfalls Membranporen bilden kann. Durch die Poren kommt es zum Verlust des intrazellulären Milieus.

Die Phagozyten exprimieren auf ihrer Membran Komplementrezeptoren, mit denen sie die mit C3b opsonisierten Erreger aufnehmen können. Die kleinen Fragmente der Komplementfaktoren, besonders C3a und C5a, sind **chemotaktisch** sehr aktiv. Sie diffundieren ins Gewebe und locken dadurch Phagozyten an, welche sich an den Konzentrationsgradienten dieser Fragmente orientieren. Dadurch wird die Entzündungsreaktion verstärkt.

Viele Defekte des Komplementsystems führen zu Immunkomplex-Glomerulonephritis. Dies zeigt, daß eine sehr wichtige Aufgabe des Komplementsystems die **Eliminierung von Antigen-Antikörperkomplexen** aus dem Plasma ist, weil sich diese sonst auf der Basalmembran der Glomeruli ablagern und dort die Ultrafiltration beeinträchtigen. Hierfür ist der Komplementrezeptor Typ 1 (CR1, CD35) entscheidend, welcher auf Phagozyten, aber auch auf Erythrozyten exprimiert wird. Weil die Erythrozyten im Blut mit Abstand der häufigste Zelltyp sind, tragen sie am meisten zum Abbau von Immunkomplexen bei. Mit CR1 können sie Immunkomplexe binden und zu Leber oder Milz transportieren. Dort werden die Komplexe von den residenten Makrophagen aufgenommen.

Es ist klar, daß das Komplementsystem sehr stringent reguliert sein muß, damit die Zellmembranen des Organismus selbst vor seinem Angriff geschützt sind. Endothelien und Leukozyten sind ja in ständigem direkten Kontakt mit dem Komplementsystem. Die Komplementreaktion kann auf vielen Ebenen reguliert werden, durch lösliche Faktoren oder durch Membranproteine auf den körpereigenen Zellen. Lösliche Faktoren sind der C1-Inhibitor, Faktor H und Faktor I. Der C1-Inhibitor führt zur irreversiblen Hemmung der Proteasen C1r und C1s. Faktor H dissoziiert Bb von C3b und inaktiviert dadurch die C3-Konvertase des alternativen Wegs. Faktor I inaktiviert C3b und C4b durch eine weitere proteolytische Spaltung. Viele Membranproteine beschleunigen den Zerfall der C3-Konvertasen und schützen dadurch die Zellmembran vor den Effektorstadien der Komplementreaktion. Eine solche Wirkung haben CR1, das Membran-Kofaktorprotein (CD46) und der Decay accelerating factor. Aber auch nach Konver-

sion von C3 und C5 ist die Zelle noch nicht wehrlos: Der homologe Restriktionsfaktor sowie CD59 blockieren die Bildung des lytischen Komplexes. Die Wirkung dieser Faktoren ist spezies-spezifisch, d.h. nur das Komplementsystem des Organismus selbst kann gehemmt werden.

1.2.6 Phagozyten

Ein lebenswichtiger Resistenzmechanismus ist die Aufnahme, Abtötung und Verdauung von Erregern durch Phagozyten. Dies leisten vor allem die neutrophilen Granulozyten, die Monozyten und die aus ihnen differenzierten Makro-

tive Sauerstoffmetabolite und Stickoxide *(respiratory burst)*, welche ebenfalls toxisch wirken. Zum Teil gelangen die toxischen Substanzen allerdings auch in die Umgebung der Zellen, besonders dann, wenn ein Partikel so groß ist, daß es nicht phagozytiert werden kann (z.B. Helminthen oder Pilze). Dann wird der Lysosomeninhalt in den Kontaktspalt zwischen Phagozyt und Erreger abgegeben. Deshalb schädigen Entzündungsreaktionen bei starker Aktivierung der Phagozyten auch den Organismus selbst.
Die adaptiven Abwehrsysteme beeinflussen die Phagozytose und nutzen sie als Effektormechanismus: B-Zellen durch die Opsonisierung von Erregern mit Antikörpern, T-Zellen dadurch,

segmente für die konstanten Domänen angefügt werden. Die Genorganisation der β-Kette und der δ-Kette ähnelt der der schweren Antikörperkette, während sie bei der TcR-α-Kette und der -γ-Kette mit den leichten Antikörperketten vergleichbar ist. Die Genloci der TcR-Ketten sind in Abb. 1.18 dargestellt. Durch Rekombination können etwa 70.000 verschiedene αβ-TcR gebildet werden, hinzu kommt noch die Variabilität durch Einfügung von zusätzliche Nukleotiden (N-Regionen), die viel ausgeprägter ist als bei den Antikörpern.
Im Vergleich zu Antikörpern ist der Antigenrezeptor der T-Zellen stabil: einmal gebildet, wird er nicht mehr verändert; Hypermutation und Rezeptoredition fehlen. Auch werden TcR nicht in den extrazellulären Raum abgegeben; sie bleiben membrangebunden. T-Zellen regulieren die gesamte Immunantwort einschließlich eines großen Teils der B-Zellantwort. Deshalb sind autoreaktive T-Zellen gefährlicher als autoreaktive B-Zellen und müssen noch strenger kontrolliert werden. Die Stabilität des TcR trägt dazu bei.

Antigenpräsentation durch MHC-Moleküle

T-Zellen erkennen ihr Antigen, meist ein Protein, nicht in löslicher Form sondern nur auf Zelloberflächen, wo es ihnen gebunden an spezialisierte Moleküle präsentiert wird. Das Antigen muß dazu aufbereitet, **prozessiert** werden. Der Genkomplex, der die Präsentationsmoleküle kodiert, wurde bei Untersuchungen zur Transplantatabstoßung entdeckt (siehe unten), und er heißt deshalb **Haupthistokompatibilitätskomplex** (*major histocompatibility complex*, **MHC**), beim Menschen auch **HLA** (**h**uman **l**eukocyte **a**ntigen). Der riesige Genkomplex von etwa 4 x 10^6 Basenpaaren auf dem menschlichen Chromosom 6 enthält etwa 100 Gene. An der Antigenpräsentation unmittelbar beteiligt sind zwei Klassen von MHC-Molekülen: Klasse-I-Moleküle (MHC-I) und Klasse-II-Moleküle (MHC-II), welche jeweils aus zwei Proteinketten bestehen. Beim Menschen sind hierfür drei MHC-I-Loci wichtig, HLA-A, HLA-B und HLA-C, und drei MHC-II-Loci, HLA-DR (2 Typen), HLA-DP und HLA-DQ (Abb. 1.19). Die Genloci zeichnen sich durch einen sehr ausgeprägten allelen Polymorphismus in der menschlichen Bevölkerung aus; z.B. gibt es mindestens 59 HLA-A-Allele und mindestens 111 HLA-B-Allele. MHC-Moleküle werden kodominant exprimiert, und ihre Vererbung folgt den Mendelschen Regeln (Abb. 1.20). Dies führt dazu, daß eine MHC-Identität zweier Menschen extrem selten vorkommt (Ausnahme: monozy-

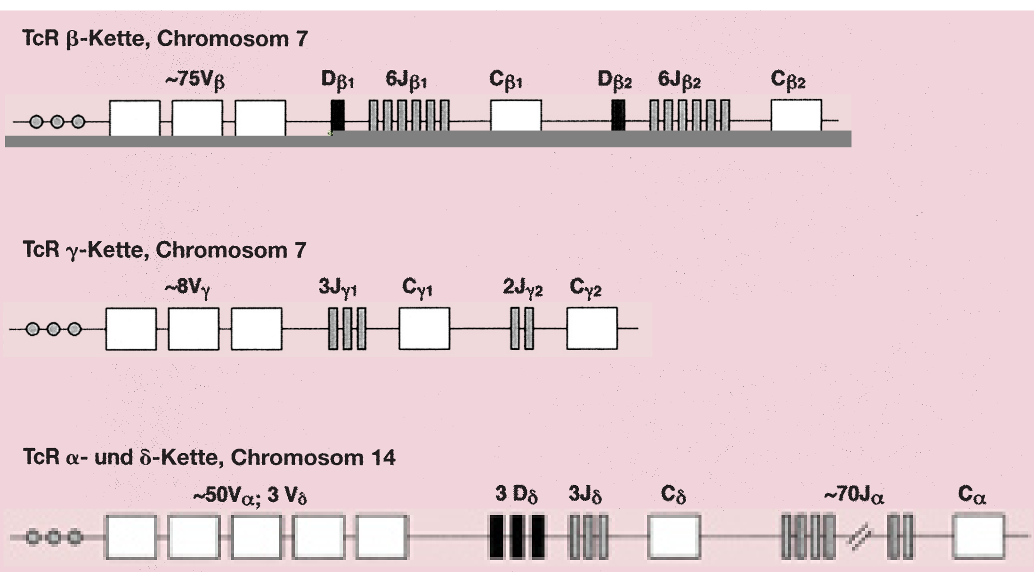


Abb. 1.18 Organisation der Gene, die für die Ketten von αβ-und γδ-Zell-Rezeptoren kodieren (Keimbahnkonfiguration).

T-Zellen können deshalb den Befall von jeder Körperzelle mit intrazellulären Erregern, besonders Viren, wahrnehmen und die infizierten Zellen lysieren.

MHC-II-Moleküle werden konstitutiv nur auf spezialisierten Zellen des Immunsystems exprimiert: auf dendritischen Zellen, auf Makrophagen, auf B-Zellen sowie auf Thymusepithel. Erst die Stimulation mit Zytokinen wie IFN-γ und TNF-α induziert MHC-II-Moleküle auch auf der Oberfläche mancher anderer Zellen. MHC-II-Moleküle sind Dimere aus jeweils einer α-Kette (35 kD) und einer β-Kette (30 kD), welche nicht kovalent miteinander assoziiert sind. Beide Ketten besitzen 2 Domänen. Die Kristallstrukturen von MHC-I und MHC-II sind sehr ähnlich; bei MHC-II sind jedoch α- und β-Kette gleichermaßen am Aufbau der Antigenbindungsgrube beteiligt. Die Grube der MHC-II-Moleküle ist im Gegensatz zu MHC-I an den Enden offen, deshalb kann die Länge der präsentierten Peptide variieren; die Überlänge der Peptide hängt einfach an beiden Enden heraus. Auf der β-Kette der MHC-II-Moleküle befindet sich eine nicht-polymorphe Bindungsstelle für das CD4-Molekül. MHC-II-positive Zellen präsentieren also Antigen für $CD4^+$ T-Helferzellen. T-Helferzellen kontrollieren und orchestrieren die adaptive Immunantwort. Durch die begrenzte Expression von MHC-II auf spezialisierten Zellen des Immunsystems wird die Aktivität dieser regulatorischen Zellen auf die lymphatischen Organe fokussiert. Antigene, welche im Kontext von MHC-II präsentiert werden sollen, werden von den Antigen-präsentierenden Zellen durch Endozytose aus dem Extrazellulärraum aufgenommen. So gewinnen $CD4^+$ T-Helferzellen Informationen über extrazelluläre Erreger, und sie können dann spezifischen B-Zellen Hilfe zur Antikörperproduktion leisten.

Antigenprozessierung

Sowohl MHC-I als auch MHC-II werden im endoplasmatischen Reticulum synthetisiert. Dort wird MHC-I assoziiert mit β2M durch Calnexin solange stabilisiert, bis ein passendes Peptid in der MHC-I-Bindungsgrube gebunden ist. Die beiden MHC-II-Ketten werden durch eine dritte, invariante Kette stabilisiert, welche sich durch die Antigenbindungsgrube schlängelt und sie für Peptide blockiert (Abb. 1.21).

Antigene, welche im Zytoplasma synthetisiert werden, werden zum Teil auch dort wieder de-

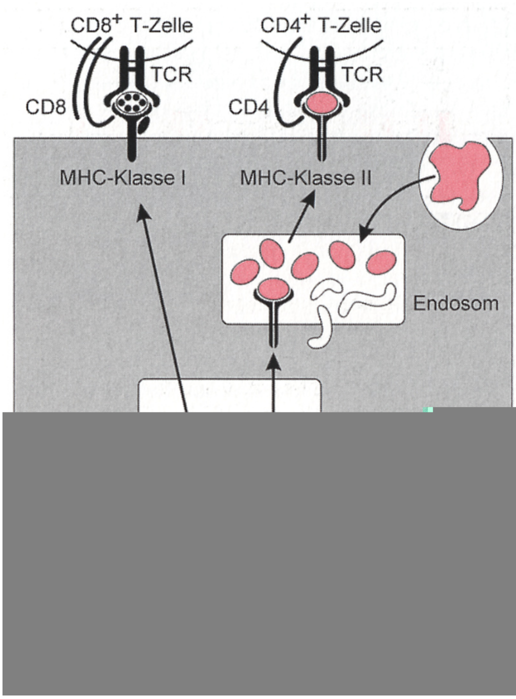


Abb. 1.21 Intrazelluläre Prozessierung und Präsentation von Antigen. Peptide zytoplasmatischer Proteine (gepunktet) werden von MHC-Klasse-I-Molekülen, Peptide exogen aufgenommener Proteine (rot) von MHC-Klasse-II-Molekülen präsentiert. Das CD8-Molekül der zytotoxischen T-Zelle bindet an das MHC-Klasse-I-Molekül, das CD4 Molekül der T-Helferzelle bindet an das MHC-Klasse-II-Molekül.

gradiert. Dies geschieht durch einen multimolekularen Komplex mit Proteaseaktivität, das Proteasom. Einige Komponenten des Proteasoms sind im MHC-Komplex kodiert. Nach ihrer Spaltung werden die Peptide durch den TAP-Transporter (**t**ransporter **a**ssociated with antigen **p**rocessing) unter Energieverbrauch in das endoplasmatische Reticulum transportiert. Der TAP-Komplex ist ebenfalls im MHC-Komplex kodiert. Wenn ein Peptid im endoplasmatischen Reticulum mit hoher Affinität an die Bindungsgrube einer MHC-I-α-Kette binden können, wird seine Assoziation mit β2M stabilisiert, der vollständige Peptid/MHC-I-Komplex durchquert den Golgiapparat und wird an der Zelloberfläche exprimiert.

MHC-II-Komplexe werden gebunden an die invariante Kette in ein endosomales Kompartiment transportiert. Dorthin gelangen auch Peptide, welche nach Endozytose von extrazel-

1

Im Kontakt mit dem Thymusepithel rearrangieren die T-Zellvorläufer ihre β-Kette und exprimieren diese zunächst zusammen mit einer Ersatz-α-Kette auf der Oberfläche. Diese erfolgreiche Expression eines vorläufigen TcR ist nötig für die weitere Entwicklung; erst dann kann die Umlagerung der α-Kette stattfinden. *Allel-Exklusion* gibt es bei der β-Kette, aber nicht bei der α-Kette, so daß etwa 30% der peripheren T-Zellen eine β-Kette und zwei α-Ketten und damit zwei TcR mit unterschiedlicher Spezifität tragen. Zellen, die keinen funktionierenden T-Zellrezeptor produzieren, nehmen an der weiteren Entwicklung nicht teil und sterben ab. Die

weil sie eine ausreichende Affinität zu einem der dort exprimierten MHC-Moleküle besitzen, bekommen ein Signal, welches sie dazu veranlaßt, sich weiter zu teilen und zu differenzieren **(positive Selektion);** die Thymozyten mit zu niedriger Affinität sterben. In einem zweiten Selektionsschritt werden diejenigen T-Zellen eliminiert, die Peptide von körpereigenen Proteinen auf Antigen-präsentierenden Zellen im Thymus erkennen **(negative Selektion).**

Auf diese Weise werden im Thymus sowohl potentiell gefährliche, autoreaktive als auch nutzlose T-Zellen, die nicht mit eigenen MHC-Molekülen reagieren können, beseitigt. Obwohl die

bzw. CD8-Molekülen an das vom TcR gebundene MHC-Molekül nötig. Eine positive Selektion kann nur stattfinden, wenn der T-Zellrezeptor

gerade verlassen haben, wandern durch das kubische Epithel der postkapillären Venolen in die Lymphknoten ein. Dort nehmen sie Kontakt zu

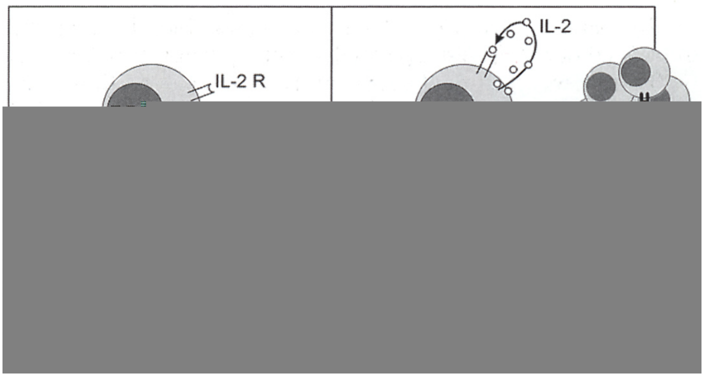

IL-2 R
IL-2



Abb. 1.24 Schematische Darstellung der Signaltransduktion im Laufe der T-Zell-Aktivierung. Die Bindung von Liganden an der Zellmembran durch T-Zell-Rezeptor und Ko-Rezeptor führt über verschiedene Zwischenschritte zur enzymatischen Modifikation von Transkriptionsfaktoren im Zytoplasma. Im Zellkern werden die Signale integriert durch Bindung verschiedener Transkriptionsfaktoren an Promotoren, z.B. des IL-2-Gens.

1.2.8 T-Zelleffektorfunktionen

T-Helferzellen ($CD4^+$)

Wenn naive $CD4^+$ T-Zellen durch erstes und zweites Signal voll aktiviert werden, sezernieren sie IL-2, proliferieren und bilden einen T-Zellklon. Später tritt unter dem Einfluß äußerer Signale häufig eine Spezialisierung oder Polarisierung der T-Helferantwort ein; die beiden Extreme des Spektrums werden *T-Helfer-1-* und *T-Helfer-2-Antwort* genannt.

T-Helfer-1-Zellen (Th1). Diese produzieren große Mengen von IL-2 und IFN-γ. Die wichtigsten Differenzierungssignale für eine Th1-Antwort sind IL-12 und IFN-γ. IL-12 wird von dendritischen Zellen und Makrophagen sezerniert und regt NK-Zellen zur Produktion von IFN-γ an. Dies stimuliert dann die Entwicklung von Th1-Zellen (Abb.1.25). Th1-Zellen vermitteln die zelluläre Immunantwort. Sie aktivieren Makrophagen, welche ihnen Antigen präsentieren, durch IFN-γ. Dadurch können die Makrophagen intrazelluläre Erreger wie Mykobakterien, welche sich in endozytotischen Vesikeln, den parasitophoren Vakuolen, befinden, sehr viel effizienter abwehren und töten.

T-Helfer-2-Zellen (Th2). Diese sind charakterisiert durch die Produktion von IL-4, IL-5 und IL-10. IL-4 ist das entscheidende Signal für die Differenzierung der Th2-Zellen. Sobald Th2-Zellen IL-4 sezernieren, fördern sie dadurch die Entwicklung weiterer Th2-Zellen (s. Abb.1.25). Es ist noch nicht endgültig geklärt, woher das IL-4 stammt, welches diese Vorgänge überhaupt in Gang bringt. Eine Th2-Antwort induziert



Abb. 1.25 Differenzierung von naiven T-Helferzellen zu Zellen vom Th1-, Th0- oder Th2-Typ. Verschiedene Zytokine beeinflussen diesen Prozeß, beispielhaft sind hier die wichtigsten angegeben.

CD40-Liganden (CD154) auf ihrer Oberfläche, welcher an CD40 auf den B-Zellen bindet. Dies ist das nötige zweite Signal für die B-Zellen, welche nun zur Proliferation aktiviert werden und eine Keimzentrumsreaktion mit Klassenwechsel und Hypermutation einleiten. Das Signal über CD40 ist für den Klassenwechsel unverzichtbar. Angeborene Defekte in der Expression des CD40-Liganden auf den T-Zellen führen zum **Hyper-IgM-Syndrom.** In den Lymphknoten der Patienten gibt es keine Keimzentren, und man findet als einziges Immunglobulin IgM in extrem hohen Konzentrationen. Die Zytokine der T-Zellen steuern den Klassenwechsel: Th1-Zytokine fördern die Produktion von IgG1, während Th2-Zytokine den Klassenwechsel zu IgG4 begünstigen und den zu IgE erst ermöglichen.

T-Zellhilfe für Phagozyten

Wie bereits oben beschrieben, können Th1-Zellen durch Zellkontakt, aber besonders auch durch die Sekretion ihres Leitzytokins IFN-γ Makrophagen stark aktivieren. Z.B. können die Phagozyten erst nach ihrer Aktivierung durch T-Zellen intrazelluläre Erreger (z.B. Mykobakterien) abtöten.

Zytotoxische T-Zellen

Die $CD8^+$ zytotoxischen T-Zellen **(CTL)** sind die wichtigsten Effektoren der adaptiven Immunabwehr von Viren und anderen Erregern, welche sich im Zytoplasma der Wirtszellen aufhalten. Alle viralen Proteine werden im Zytoplasma der befallenen Zelle synthetisiert. Einige werden im Proteasom sofort wieder degradiert, die Peptid-Fragmente werden ins endoplasmatische Reticulum transportiert und schließlich gebunden an MHC-I auf der Zelloberfläche präsentiert. Zwar können alle Körperzellen von Viren befallen werden und virale Antigene im Komplex mit MHC-I auf ihrer Zelloberfläche präsentieren; aber *naive* $CD8^+$ T-Zellen benötigen zur Proliferation neben diesem ersten Signal ein zweites Signal durch CD28, das nur Zellen mit CD80 oder CD86 vermitteln können. Deshalb kann eine zytotoxische T-Zellantwort nur durch *professionelle* APC initiiert werden. In manchen Fällen genügt dieser Kontakt zwischen $CD8^+$ T-Zelle und APC, um die Proliferation der T-Zellen und ihre Differenzierung zu CTL zu induzieren. Oft ist jedoch die zusätzliche Hilfe von $CD4^+$ T-Zellen nötig. Die T-Helferzellen müssen durch einen Peptid/MHC-II-Komplex von derselben APC aktiviert werden. Ihre Hilfe für die $CD8^+$ T-Zellen kann dann darin bestehen, daß sie die APC zur vermehrter Expression von CD80 und CD86 aktivieren, oder darin, daß sie den Wachstumsfaktor IL-2 in hohen Konzentrationen sezernieren. Vollständig aktivierte $CD8^+$ T-Zellen proliferieren und differenzieren zu CTL und Memory-T-Zellen. CTL besitzen zytoplasmatische Granula, welche das porenbildende Protein **Perforin** und Proteasen enthalten. Außerdem exprimieren sie auf ihrer Zelloberfläche den Liganden für CD95/Fas/APO-1 (CD95L). Wenn CTL nun auf ihren antigenen Peptid/MHC-I-Komplex treffen, werden sie sofort „getriggert"; sie benötigen jetzt kein zweites Signal mehr. Deshalb können CTL alle MHC-I-positiven Zellen des Organismus lysieren, wenn diese z.B. von Viren befallen sind.

Es gibt zwei Hauptmechanismen, durch die CTL ihre Zielzelle töten können:

1. CD95L kann an CD95 auf der Oberfläche der angegriffenen Zelle binden. Dieses Signal löst in der Zielzelle ein Zelltodprogramm aus, **Apoptose** genannt.
2. Der Inhalt der zytotoxischen Granula wird in den Kontaktspalt zwischen CTL und Zielzelle abgegeben (Abb. 1.27).

Perforin ähnelt der Komplementkomponente C9, es kann ebenfalls in der Zellmembran Poren bilden. Dies führt zur Auslösung von Apoptose durch Proteasen aus den zytotoxischen Granula, z. B. Granzym B, welche durch die Poren ins Zytoplasma der Zielzelle gelangen und dort eine Proteasekaskade auslösen. Die CTL ist selbst gegen den Inhalt ihrer Granula resistent. Sie verläßt die sterbende Zelle und macht sich auf die Suche nach weiteren Opfern. Da CTL so leicht getriggert werden, dann kaum noch kontrollierbar sind und viele Zielzellen lysieren können, sind sie potentiell sehr gefährlich: Eine einzige autoreaktive CTL könnte erheblichen Schaden im Organismus anrichten. Der Schaden wird aber dadurch begrenzt, daß CTL terminal differenzierte Zellen mit begrenzter Lebenszeit sind. Die Reifung neuer CTL aus naiven $CD8^+$ T-Zellen ist jedoch, wie oben beschrieben, ein streng regulierter Vorgang.

Der Mechanismus der **Apoptose** ist gut charakterisiert: im Innern der Zelle bildet sich um die zytoplasmatischen Teile von CD95 herum ein multimolekularer Komplex aus, der sogenannte **DISC** (**d**eath **i**nducing **s**ignaling **c**omplex). Zentraler Bestandteil des DISC ist die Protease **Caspase 3,** welche in diesem

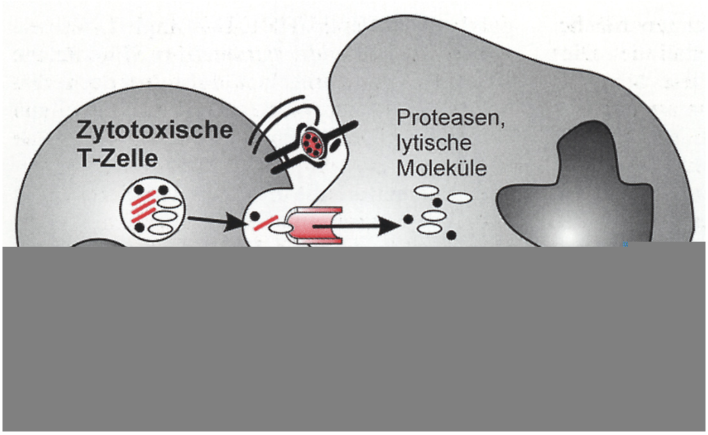


Abb. 1.27 Schematische Darstellung der Mechanismen der Zytotoxizität durch $CD8^+$ T-Zellen. Antigen-Erkennung durch den TCR führt zur Exozytose von Granula. Das hierin enthaltene Perforin (rot) bildet Poren, durch die zytolytische Moleküle ins Innere der Zelle dringen können. Außerdem wird der Ligand für CD95 auf der Oberfläche der T-Zelle hochreguliert. Seine Bindung an CD95 auf der Zielzelle induziert über die Aktivierung von Caspasen ebenfalls Apoptose.

Komplex durch autokatalytische Spaltung aktiviert wird. Dies setzt eine Proteasekaskade in Gang, welche schließlich zur Zerstörung lebenswichtiger Zellproteine führt. Außerdem wird **DEDD (d**eath **e**ffector **d**omain-containing **D**NA-binding protein) aktiviert, welches im Nukleolus mit sehr hoher Affinität an alle zugänglichen DNA-Sequenzen bindet und dadurch die Transkription blockiert. Schließlich kommt es zur Aktivierung einer Caspase-aktivierten DNAse **(CAD),** welche im Kern die DNA zwischen den Nukleosomen schneidet und sie dadurch in Fragmente mit charakteristischer Länge (Vielfache von 200 Basenpaaren) zerlegt. Morphologisch scheint die Zellmembran der apoptotischen Zelle zu „kochen", es entstehen kleine Bläschen. Der Kern und die ganze Zelle schrumpfen, das Chromatin wird zu elektronendichten Massen kondensiert (Kernpyknose), der Zellkern wird fragmentiert. Schließlich fragmentiert die ganze Zelle und bildet sogenannte **apoptotic bodies** aus, welche sehr schnell von Makrophagen aufgenommen werden. Die apoptotic bodies sind noch von einer impermeablen Zellmembran umgeben, so daß der Zellinhalt, z.B. die lysosomalen Enzyme, bei der Apoptose nicht in die Umgebung abgegeben werden. Auch Ma-

verstanden. Man schreibt ihnen eine Rolle bei der frühen Abwehr von Infektionen zu, weil sie sich bei Infektionskrankheiten wie Malaria oder Brucellose vermehren, und weil im Mausmodell manche Erreger nur in Anwesenheit von γδ-T-Zellen abgewehrt werden können. Es sind γδ-T-Zellen beschrieben worden, die wie αβ-T-Zellen ein Peptidantigen MHC-restringiert erkennen. Typischer scheinen jedoch γδ-T-Zellen zu sein, welche keine Peptide, sondern niedermolekulare, chemisch sehr diverse Liganden erkennen. So wurden Spezifitäten für Oligosaccharide, Nukleoside und phosphorylierte Fettsäuren aus der Zellwand von *Mycobacterium tuberculosis* beschrieben. Diese Antigene scheinen nicht von MHC-Molekülen präsentiert zu werden. Dies steht im Einklang damit, daß der γδ-TcR den Fab-Fragmenten der Immunglobulinmoleküle strukturell ähnlicher ist als dem αβ-TcR.

1

Tab. 1.9 Wichtige Zytokine

Zytokin	vorwiegend produzierende Zellen	hauptsächliche Wirkungen
IL-1	Makrophagen, fast alle Zellen	inflammatorisch, pyrogen, aktivierend für fast alle Zellen des Immunsystems
IL-2	CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen	Wachstum von T-Zellen, NK-Zellen und B-Zellen
IL-3	CD4⁺-T-Zellen	Wachstum von hämatopoetischen Vorläuferzellen (Multi-CSF) und Mastzellen
IL-4	CD4⁺-T-Zellen (vorw. Th2), Mastzellen	Proliferation von B-Lymphozyten, Klassenwechsel zu IgE, Wachstum von Mastzellen, Wachstum von Th2-Zellen, Klassenwechsel zu IgG4, Hemmung der Bildung von Th1-Zellen
IL-5	T-Lymphozyten	Wachstum und Aktivierung von eosinophilen Granulozyten, Wachstum von B-Lymphozyten
IL-6	viele verschiedene Zellen, besonders Makrophagen	Wachstum von B-Lymphozyten, Induktion von „Akutphase-Proteinen" in der Leber
IL-8	Monozyten, T-Zellen, Thrombozyten, Endothelzellen	Mitglied der Familie der Chemokine, inflammatorisch, chemotaktisch für verschiedene Zellen, aktivierend für verschiedene myeloide und lymphoide Zellen
IL-9	T-Lymphozyten	Wachstum von T-Lymphozyten, Mastzellen und bestimmter hämatopoetischer Vorläuferzellen
IL-10	Makrophagen, B-Zellen, T-Zellen	Unterdrückung von Wachstum und Interferon-γ-Produktion bei Th1-Zellen, Hemmung der Wirkung von Interferon-γ, Hemmung der Antigenpräsentation von Makrophagen
IL-12	Makrophagen, dendrit-Zellen	Aktivierung von NK-Zellen zur Interferon-γ-Produktion, Stimulation von Th1-Zellen, Differenzierung von CTL
IL-13	T-Lymphozyten	Wirkungen denen des IL-4 sehr ähnlich
Interferon-γ	T-Zellen, NK-Zellen	Aktivierung von Makrophagen zur Abtötung intrazellulärer Bakterien und Parasiten und zur Produktion von Mediatoren wie IL-1, Tumornekrosefaktor-α, IL-6; verstärkte Expression von MHC-Molekülen, Verstärkung der Phagozytose, Hemmung des Wachstums von TH2-Zellen, Klassenwechsel zu IgG1, Hemmung des Klassenwechsels zu IgE
Tumornekrosefaktor-α	Monozyten, T-Zellen	Inflammatorisch, pyrogen, zytotoxisch, aktivierend für Granulozyten, Makrophagen, B-Zellen, synergistisch mit vielen Zytokinen. Freisetzung von PGE_2, Hypotension, „Akutphase-Antwort"

zung und Beendigung der Immunreaktion sind deshalb für den Organismus lebenswichtig. Diese Mechanismen sind an verschiedenen Stellen schon erwähnt worden und sollen hier noch einmal zusammengefaßt werden.

Immunreaktionen dürfen nur dort ausgelöst werden, wo Gefahr droht. Gegen Antigene des

den Thymus überlebt haben, ihr Autoantigen als erstes auf einer Körperzelle. Diese gibt ihnen das erste, nicht aber das zweite, für die Aktivierung erforderliche Signal. Dadurch werden diese autoreaktiven T-Zellen anerg oder sterben. Auch das B-Zellrepertoire unterliegt während der Reifung der Zellen einer Selektion, wobei

Zellen in den Keimzentren autoreaktiv geworden sind, präsentieren sie den T-Helferzellen Autoantigen. Hierfür sind die T-Zellen jedoch tolerant, und sie verweigern die Hilfe.

Ist eine Immunreaktion jedoch einmal in Gang gekommen, bewirken vielfältige positive Feedback-Mechanismen, daß sie schnell ein hohes Niveau erreicht. Der Vorteil der adaptiven Immunität für den Organismus besteht ja gerade darin, daß Schnelligkeit und Intensität bei einer wiederholten Infektion mit demselben Erreger noch wesentlich gesteigert werden können. Welche Mechanismen dämpfen diesen Ausbruch dann wieder? Zunächst sind die Effektorzellen terminal differenziert, d.h. sie können sich nicht mehr teilen und haben eine begrenzte Lebenszeit. So klingen die Antikörper-Sekretion durch Plasmazellen und die CTL-Antwort von allein ab, sofern sich nicht permanent neue Zellen differenzieren. Die Rekrutierung und Differenzierung von Effektorzellen hört aber auf, sobald das Antigen eliminiert ist. Aber das Immunsystem besitzt darüberhinaus Mittel, eine Immunreaktion aktiv zu beenden:

1. IL-10, ein Sekretionsprodukt aktivierter Th2-Zellen und Makrophagen hemmt die Funktionen der APC.
2. Nach ihrer Aktivierung kann in T-Zellen selbst leicht Apoptose ausgelöst werden.
3. Aktivierte T-Zellen exprimieren auf ihrer Oberfläche CTLA-4 (CD152), ein Homodimer mit Sequenzhomologie zum kostimulatorischen Rezeptor CD28. CTLA-4 bindet ebenfalls CD80 und CD86-Moleküle auf der Oberfläche der APC, gibt der T-Zelle jedoch ein negatives Signal, welches ihre Proliferation beendet.
4. B-Zellen tragen auf ihrer Oberfläche den Fcγ-Rezeptor CD32. Wenn ihr spezifisches Antigen bereits mit Antikörper komplexiert ist, können diese Komplexe gleichzeitig den spezifischen Antigen-Rezeptor und den Fcγ-Rezeptor binden. Hierdurch wird die B-Zelle abgeschaltet.

1.2.12 Spezielle Infektabwehr

Das Immunsystem ist mit einer Vielfalt von Erregern konfrontiert, die eine Vielzahl von verschiedenen Strategien der Infektion verwenden. Für jeden Erregertyp, fast für jeden Erreger selbst, gibt es spezifische Kombinationen von Abwehrmechanismen. Eine vollständige enzyklopädische Auflistung aller molekularen Abwehrmechanismen gegen alle verschiedenen Erreger ist an dieser Stelle nicht möglich. In diesem Kapitel sollen anhand von Beispielen wesentliche Prinzipien der spezifischen Abwehr erklärt werden, die gegen exemplarische Erreger angewendet werden. Die meisten Kenntnisse dieser Abwehrmechanismen stammen aus experimentellen Infektionen, im allgemeinen der Maus. Nur relativ wenige Daten wurden aus klinischen Beobachtungen gewonnen oder aus der Untersuchung von Patientenmaterial. Da sich die Immunsysteme von Maus und Mensch in wesentlichen Einzelheiten unterscheiden, muß dies bei der Beurteilung der Abwehrmechanismen berücksichtigt werden.

Abwehr von intrazellulären Erregern

Viren

Mechanismen der unspezifischen Resistenz wehren Viren vor oder zu Beginn der Infektion ab. Physikalische Barrieren bestehen z.B. in Epithelien wie Flimmerepithel oder Haut, oder im Magensaft. Früh nach Infektion werden Interferone gebildet (IFN-α aus vorwiegend mesenchymalen Zellen und IFN-β vorwiegend aus Leukozyten), welche die Ausbreitung der Virusinfektion durch Schutz nicht infizierter Zellen verhindern. Ihre antivirale Wirkung beruht auf verschiedenen Mechanismen, u.a. einer Degradation von RNA in der Zelle und einer Hemmung der Proteinsynthese. Weitere Wirkungen dieser Interferone sind eine Aktivierung von Natural-Killer-Zellen, die virusinfizierte Zellen lysieren können und IFN-γ produzieren, das neben anderen Wirkungen auch antivirale Wirkung besitzt. Außerdem induzieren diese Interferone eine verstärkte Expression von MHC-I-Molekülen, die infizierte Zellen leichter erkennbar für T-Zellen macht und nicht-infizierte Zellen vor dem Angriff von NK-Zellen schützt.

Wenige Tage nach der Infektion sind die Mechanismen der spezifischen adaptiven Abwehr, Antikörper und T-Zellen, nachweisbar. Die drei wesentlichen Effektormechanismen sind Neutralisierung von Viruspartikeln durch Antikörper, Zerstörung der infizierten Zellen durch zytotoxische T-Zellen und das von diesen Zellen produzierte IFN-γ.

Als **Neutralisation** wird die Hemmung der Infektion durch Viren bezeichnet. Viren besitzen spezifische Rezeptoren für Wirtskomponenten. Diese Rezeptoren können, wie im Falle der Myxoviren, spezifische Lektine für Neuramin-

säure oder ähnliche Zuckerstrukturen sein. Sie können auch über Protein-Protein-Wechselwirkung mit Zelloberflächenmolekülen reagieren, wie im Falle des Glykoproteins des HIV mit CD4 und Chemokin-Rezeptoren oder im Falle des Rhinovirus mit dem *intercellular adhesion molecule-1* (CD54). Antikörper-Bindung an die Rezeptorstrukturen der Viren verhindert die Infektion der Zelle. Neutralisierende Antikörper sind daher ein wichtiger Schutzmechanismus gegen eine Reinfektion (insbesondere in Form von

Produktion von neutralisierenden Antikörpern. Im Keimzentrum präsentieren B-Lymphozyten, die mit ihrem Antigenrezeptor gegen ein externes Virusprotein Viruspartikel aufgenommen haben, virale Antigene mit MHC-II-Molekülen für CD4-Zellen. Da Peptide aus allen viralen Antigenen präsentiert werden, können auch T-Helferzellen, die Peptide von internen Virusproteinen erkennen, mit den B-Zellen interagieren. CD4-Zellen sind auch wichtig für die Aufrechterhaltung der CD8-Antwort. Sie können auch

Abtötung befähigen, sind in erster Linie CD4+ T-Zellen vom Th1-Typ, die in der Lage sind, IFN-γ zu sezernieren. Daher ist für die Abwehr dieser Erreger von größter Bedeutung, daß früh die Immunreaktion auf die Bildung von Th1-Zellen gerichtet wird. Entscheidend ist die frühe Bildung von IL-12, das NK-Zellen zur Bildung von IFN-γ anregt und die Reifung von Th1-Zellen bewirkt. IL-12 und IFN-γ bewirken gleichzeitig eine Unterdrückung der Bildung von Th2-Zellen. Das von Th2-Zellen gebildete IL-4 wirkt auf den Makrophagen direkt antagonistisch zur aktivierenden Wirkung des IFN-γ. Das klassische Beispiel für die Bedeutung der Th1-Zellen ist die Infektion der Maus mit *Leishmania major.* Schutz gegen dieses in Makrophagen ansässige, obligat intrazelluläre Protozoon wird nur durch IFN-γ vermittelt, das von CD4+ Th1-Zellen produziert wird. Mäuse, die eine Immunantwort vom Th2-Typ generieren, können das Wachstum des Parasiten nicht kontrollieren und sterben an der Infektion. Ähnlich scheint bei der lepromatösen Lepra des Menschen eine Immunreaktion vom Th2-Typ mit IL-4 Produktion vorzuliegen, während bei der tuberkulösen Form IFN-γ gefunden wird.

Die typische histologische Struktur, die bei der Th1-Reaktion entsteht, ist das **Granulom** mit T-Zellen und Makrophagen in verschiedenen Differenzierungsstadien, inklusive Epitheloidzellen und Riesenzellen. Es ist essentiell für die lokale Begrenzung der Infektion. Allerdings führt die Bildung von Granulomen meist zu einer Störung der Gewebefunktion bis hin zur Gewebezerstörung wie z.B. bei der tuberkuloiden Lepra.

CD8-positive Zellen stellen auch einen effizienten Effektormechanismus gegen diejenigen Erreger dar, denen es gelingt, ins Zytoplasma zu entkommen. Dies ist z.B. der Fall bei *Listeria monocytogenes*, das durch das porenbildende Listeriolysin die phagozytische Vakuole aktiv verlassen kann. Die Proteine, die der Erreger dort synthetisiert, können damit auch von MHC-Klasse-I-Molekülen präsentiert werden. Es werden aber auch Antigene von *Mycobacterium tuberculosis* oder von Yersinien und Salmonellen durch Klasse-I-Moleküle präsentiert.

CD8-positive T-Zellen wirken sowohl durch Zytolyse als auch über sezernierte Zytokine, in erster Linie IFN-γ. Zwei unabhängige Mechanismen der zellulären Zytotoxizität stehen ihnen zur Verfügung. Der wichtigste Mechanismus ist zymen) und lytischen Peptiden durch die Perforinpore. Dieser Weg scheint auch zu einer direkten Schädigung der intrazellulären Erreger zu führen. Der zweite Weg ist die Hochregulation des Liganden für Fas (CD95), das in der Zielzelle Apoptose induziert. CD8-Zellen spielen auch eine Rolle gegen Erreger in anderen Zellen als Makrophagen. Ein typisches Beispiel ist die Lyse der mit Plasmodien-Sporozoiten infizierten Hepatozyten durch CD8+ CTL. Nach entsprechender Immunisierung können durch Zerstörung der infizierten Leberzellen die Sporozoiten nicht zu den Blutformen heranreifen und es kommt zu einer sterilen Immunität bei einer Reihe von Versuchstieren.

Abwehr von extrazellulären Erregern

Bakterien und Protozoen

Extrazelluläre Bakterien können nur im Wirt überleben, wenn sie den entscheidenden Abwehrmechanismus, die Zerstörung durch professionelle Phagozyten, Granulozyten und Makrophagen, umgehen. Sie tun dies, indem sie die Phagozytose durch Polysaccharid-Kapseln oder antiphagozytäre Proteine wie das M-Protein von *Streptococcus pyogenes* verhindern. Daher ist eine durch Antikörper und Komplement erleichterte Phagozytose (Opsonisierung) ein wichtiger Mechanismus zur Abwehr dieser Bakterien, bedeutender als die Lyse der Bakterien durch die terminale Komplementsequenz. Defekte der frühen Komponenten des Komplementsystems führen ebenso wie Granulozytendefekte zur Häufung eitriger Infektionen. Die besonders gegen Kohlenhydrat-Antigene gebildeten IgG2- (und auch IgG4-) Antikörper werden erst im zweiten Lebensjahr produziert. Daher sind Infektionen mit Kapsel-tragenden Bakterien, wie *Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae* oder *Neisseria meningitidis* für Kleinkinder besonders gefährlich. Ein selektiver Mangel der Immunglobuline der IgG2- und IgG4-Subklasse ist ein nicht seltener Immundefekt. Diese Patienten sind besonders anfällig für Infektionen mit Kapsel-tragenden Bakterien.

Typischerweise produzieren viele extrazelluläre Bakterien Toxine und Enzyme, die entscheidende Pathogenitätsfaktoren sind und sich oft gegen Bestandteile des Immunsystems richten. Die Neutralisation von Exotoxinen verschiedener

Mutationen oder Rekombination von Genen antigene Determinanten ersetzen. Das klassische Beispiel sind die Antigenvariationen der afrikanischen Trypanosomen, der Erreger der Schlafkrankheit. Die Parasitämie durch *Trypanosoma brucei* verläuft wellenförmig, indem immer wieder eine neue Subpopulation entsteht, die eine antigenetisch neue Form des Haupt-Oberflächenglycoproteins VSG auf ihrer Oberfläche trägt. Daher können diese Erreger frei im Blut vorliegen; eine Antikörperantwort ist, durch die Vielzahl der Variationsmöglichkeiten des Glykoproteins, nicht in der Lage, die Infektion dauerhaft zu kontrollieren. Ähnliche Veränderungen gibt es bei den Pili von *Neisseria meningitidis* und *Neisseria gonorrhoeae*. Sie werden von virulenten Stämmen gebildet und ermöglichen die Anheftung an das Wirtsepithel. *Plasmodium falciparum* exprimiert das Protein PfEMP1, das auf der Oberfläche von infizierten Erythrozyten erscheint und für deren Sequestration in der Mikrozirkulation verantwortlich ist. Es bestimmt die Antigenität des infizierten Erythrozyten. Es wird von Mitgliedern der *var*-Genfamilie kodiert, wobei individuelle Parasiten nur ein *var*-Gen aus einem großen Repertoire von Genen exprimieren.

Antigene Variation ist sehr häufig bei Viren anzutreffen, sie beruht hier üblicherweise auf Mutationen. Die antigenetischen Veränderungen betreffen entweder die Oberflächenproteine, die von neutralisierenden Antikörpern erkannt werden (besonders bekannt als antigener Drift beim Influenza-Virus), oder die Sequenz von Epitopen, die an MHC-I-Moleküle binden und von $CD8^+$ T-Zellen erkannt werden. Diese sog. **Escape-Varianten** können sich dann im Organismus verbreiten, bis der Wirt wieder passende Antikörper und T-Zellen produziert hat. Ein solches Entkommen eines Virus vor der CTL-Antwort wurde für das HIV, das Hepatitis B-Virus und das Hepatitis C-Virus beim Menschen beschrieben. Derartige Mutationen können dazu führen, daß entweder das Epitop nicht mehr vom Klasse-I-Molekül gebunden wird, oder es wird zwar gebunden, aber nicht mehr vom T-Zellrezeptor erkannt. Es können durch die Mutation auch sogenannte **antagonistische Peptide** entstehen, die in der Lage sind, zytotoxische T-Zellen zu inaktivieren und damit diese Immunantwort zu unterdrücken.

Hemmung der Antigen-Präsentation

Bei Viren sind verschiedene Mechanismen zu finden, die Antigen-Präsentation durch MHC-Klasse I-Moleküle in infizierten Zellen verhindern, um der Kontrolle durch CD8-Zellen zu entgehen. Während Viren mit kleinem Genom durch die Geschwindigkeit ihrer Replikation der Zellyse durch CTL zuvorkommen, haben Viren mit größerem Genom, wie z.B. Herpesviren, die bis zu 200 verschiedene Proteine während ihres Replikationszyklus exprimieren, Mechanismen entwickelt, um die Antigen-Präsentation viraler Epitope zu hemmen. Virale Proteine degradieren MHC-I-Moleküle oder hemmen den TAP-Transporter, der Peptide ins ER transportiert. Diese infizierten Zellen tragen nur wenige MHC-I-Moleküle, sind aber dann durch NK-Zellen lysierbar, da MHC-I-Moleküle die Lyse durch NK-Zellen verhindern. Das Zytomegalievirus kann wiederum die Lyse durch NK-Zellen verhindern, indem es ein MHC-I-artiges Molekül auf die Oberfläche von infizierten Zellen bringt, das die NK-Zellen abschaltet. Auch eine Hemmung der Antigen-Präsentation durch Klasse II ist für einige Erreger, z.B. für Leishmanien, beschrieben worden. Manche Erreger können auch die Stimulation der T-Zellen durch Herabregulation von kostimulierenden Molekülen auf infizierten Zellen beeinträchtigen.

Interferenz mit Abwehrmechanismen

Um sich gegen Effektormechanismen der Immunantwort zu schützen, können Erreger diese direkt stören. So zerstören das α-Toxin und β-Toxin von *Staphylococcus aureus* präferenziell die für das Bakterium gefährlichen phagozytierenden Zellen. Die M-Proteine von *Streptococcus pyogenes* interferieren mit den Phagozytosemechanismen. Zudem sind sie Rezeptoren für eine Reihe von Plasmaproteinen, die durch Bindung an die M-Proteine die Streptokokken maskieren. Kapseln von Bakterien wie *Neisseria meningitidis* oder *Haemophilus influenzae* haben ebenfalls Phagozytose-hemmende Eigenschaften. Erst durch Opsonisierung können diese bekapselten Erreger von Phagozyten aufgenommen werden. Daher sind Kapseln essentielle Virulenzfaktoren. Auch Interferenz mit dem Komplementsystem ist häufig zu beobachten. Es ist bemerkenswert, daß Herpes- und Poxviren für Komplement-regulierende Proteine kodieren, deren Gene von homologen Genen des Wirtes abstammen dürften.

Die Induktion einer fehlerhaften oder ungeeigneten Immunantwort ist im Interesse des Erregers. Daher kodieren eine Reihe von Viren im-

munregulatorische Proteine. Das Epstein-Barr-Virus z.B. kodiert ein virales IL-10, das eine hohe Sequenzhomologie zum menschlichen IL-10 und identische Wirkungen besitzt. Gene für weitere immunregulatorische Proteine (z.B. für Zytokine, Zytokinrezeptoren und Komplement-regulatorische Proteine), mit hoher Sequenzidentität zu homologen humanen Genen, wurden bei der Sequenzierung u.a. verschiedener Herpesviren und von Pox-Viren gefunden.
Eine weitere Methode, der Immunantwort zu entkommen, ist die Persistenz an sog. **immunprivilegierten** Orten. Viele Erreger persistieren im zentralen Nervensystem, weil dieses keine immunologischen Strukturen besitzt und daher vom Immunsystem nur unzureichend kontrolliert wird.

Superantigene
Grampositive Kokken produzieren T-Zell-stimulierende Exotoxine wie die Enterotoxine und das Toxic-Shock-Syndrom-Toxin-1 von *Staphy-*

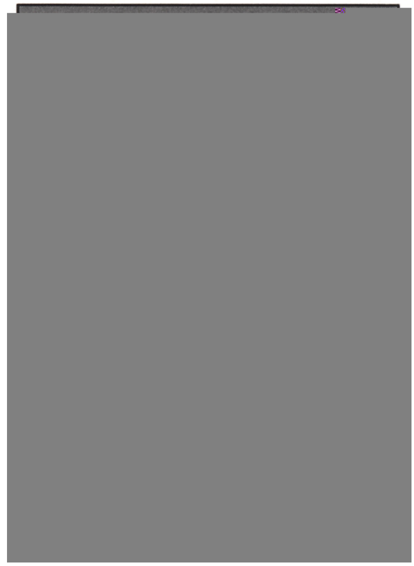


Abb. 1.28 Mechanismus der Aktivierung von T-Zellen durch Superantigen

dungen oder Gewebsschäden. Ein Beispiel ist die Schädigung der Basalmembran beim *Goodpasture-Syndrom.* Auch der Antikörper-abhängige Abbau durch Phagozyten z.B. bei *autoimmunhämolytischen Anämien* oder *Autoimmun-Thrombopenien* wird als eine Typ II Reaktion betrachtet.

Typ III. Diese Reaktionen werden durch Immunkomplexe ausgelöst. Klassisches Beispiel mit eher historischer Bedeutung sind die sog. „Serumkrankheit" (Injektion einer größeren Menge von xenogenem Serum) und das „Arthus-Phänomen" (lokale Injektion eines Antigens in einen vorimmunisierten Wirt). Gleichzeitige Anwesenheit von Antigen und spezifischen Antikörpern führt zur Bildung von Immunkomplexen, die dann systemisch (Serumkrankheit) oder lokal (Arthus-Phänomen) Entzündungsreaktionen hervorrufen.

Typ IV. So oder als *Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp* (Delayed Type Hypersensitivity, *DTH)* wird die T-Zell-vermittelte Entzündung durch Infiltration mit mononukleären Zellen bezeichnet. Typisches Beispiel ist die *Tuberkulinreaktion;* eine Typ IV-Reaktion ist bei den meisten T-Zellvermittelten Entzündungen beteiligt, z.B. beim Kontaktekzem. Die Typ IV-Reaktion wird von Th1-Zellen vermittelt, entscheidendes Zytokin ist IFN-γ. Da aus der Aktivierung von Th1-Zellen eine Entzündungsreaktion resultiert, werden diese auch als inflammatorische T-Zellen bezeichnet. Wird eine Immunantwort von Th2-Zellen vermittelt, entsteht keine Typ IV-Reaktion, Th2-Zellen sind daher anti-inflammatorisch.

Diese Einteilung der immunpathologischen Reaktionen in isolierte Typen ist heute nicht mehr angebracht, sie wird der Komplexität der Immunreaktion nicht gerecht und ist nicht vollständig. Sie erfaßt nicht die pathogenetisch direkt (ohne Beteiligung von Komplement oder Zellen) wirksamen Autoantikörper, wie z.B. bei *Myasthenia gravis* gegen den Acetylcholinrezeptor und bei *Pemphigus* gegen Desmosomen, und auch nicht die zytotoxische Aktivität von $CD8^+$ T-Zellen.

Immunpathologische Konsequenzen von Infektionen

Immunpathogenese durch $CD8^+$ T-Zellen

Immunpathologische Reaktionen sind nicht nur Konsequenzen einer Immunantwort gegen Selbstantigene, sondern entstehen auch bei fast jeder normalen Antwort gegen Infektionserreger. Die Zerstörung von Virus-infizierten Zellen durch $CD8^+$ CTL führt zwar zur Eliminierung des Virus, kann aber auch ausgedehnte Gewebszerstörungen hervorrufen. Daher ist der Schaden durch die CTL-Antwort in vielen Fällen ausgeprägter als durch die eigentliche Infektion mit dem Virus selbst. Insbesondere bei Viren, die keinen zytopathischen Effekt hervorrufen, sondern in befallenen Zellen eine persistierende Infektion etablieren, führt erst die CTL-Antwort zur Pathologie. Dies wurde zuerst bei der Infektion der Maus mit dem LCM-Virus gefunden, dem nun klassischen Experimentalmodell für die Interaktion von Virus-und Immunsystem. Ein Ausbleiben der CTL-Antwort durch z.B. Toleranz bei neonataler Infektion führt zur persistierenden Infektion ohne Pathologie, die infizierte Maus wird Träger und Ausscheider des Virus. Ein typisches Beispiel beim Menschen ist die Infektion der Leberzellen durch Hepatitis A-Virus, das Zellen in vitro produktiv und persistierend infiziert, ohne sie zu zerstören. Die Hepatitis wird erst durch die Zerstörung infizierter Hepatozyten hervorgerufen. Zur Zeit der maximalen Virusproduktion und Virusausscheidung ist noch keine Hepatitis festzustellen, der Anstieg der Transaminasen erfolgt erst, wenn die Virusproduktion durch die zytotoxischen T-Zellen erniedrigt wird. Ähnliche Verhältnisse gelten für die Mumps-Erkrankung des Menschen, die Hepatitis B und viele andere mehr.

Immunpathogenese durch $CD4^+$ T-Zellen

Die Eigenschaft der „inflammatorischen" Th1-Zellen, Mediatoren der Entzündung zu sezernieren, führt bei Stimulation dieser Zellen regelmäßig zu begleitenden Entzündungen. Dieser Tatsache liegen die Gewebszerstörungen z.B. bei Tuberkulose und bei tuberkuloider Lepra zugrunde, während die Infektion mit Mycobakterien im immunsuppremierten Patienten nicht die ausgeprägten Zeichen der Entzündung und Fieber zeigt.

Die lokale Persistenz von Antigenen eines Erregers, der Th1-artige $CD4^+$-Zellen stimuliert, führt ebenfalls zu lokaler Entzündung. Ein Beispiel ist die u.a. durch Enterobakterien, wie Yersinien oder Salmonellen, ausgelöste sog. **Reaktive Arthritis.** Nach einer gastrointestinalen Infektion gelangen diese Bakterien in die Zirkulation, die Aufnahme des Erregers führt über noch unklare Mechanismen (Transport durch Makrophagen?) zur Ablagerung von Proteinen

des Erregers im Gelenk, die dann von IFN-γ produzierenden CD4$^+$-Zellen erkannt werden. Dies führt zur lokalen Entzündung. Es ist dabei umstritten, ob überhaupt eine Replikation des Erregers im Gelenk stattfinden muß, oder ob nur Erregermaterial ins Gelenk transportiert wird. Die Eliminierung des Antigens führt dann zum Sistieren der Entzündung.
Die Ausprägung einer Th2-Antwort hat daher anti-inflammatorische Konsequenzen. Bei der lepromatösen Form der Lepra ist IL-4, aber kein IFN-γ in der befallenen Region zu finden, begleitet von einer massiven Vermehrung der Mykobakterien. Entzündungszeichen und Gewebszerstörung fehlen, allerdings zerstören die Bakterien ihre speziellen Wirtszellen.

Auslösung von Autoreaktivität

Im Rahmen einer Infektion kann es auch zu einer spezifischen Sensibilisierung des Immunsystems gegen körpereigene Strukturen kommen. In den meisten Fällen ist dies auf eine Kreuzreaktion zwischen Epitopen des Erregers und Molekülen des Wirtes zurückzuführen. Entweder handelt es sich um sehr konservierte Proteine, die hohe Sequenzhomologien zwischen Wirt und Erreger aufweisen, wie z.B. die **„Heat-Shock-Proteine“**, oder um Epitope, die zufällig sonst nicht verwandten Proteinen gemeinsam sind. Beispiele für solche Kreuzreaktionen für Antikörper sind die M-Proteine von *Streptococcus pyogenes*, bei denen bestimmte Serotypen Epitope besitzen, die mit menschlichem Herzmuskel und anderen Geweben kreuzreagieren. Für die Stimulation autoreaktiver T-Zellen müs-

binase-aktivierenden Genen, der die Rekombination der Immunglobulin- und TcR-Gene nicht erlaubt, führt zum Ausbleiben der T-Zell- und B-Zelldifferenzierung. Defekte sind auch in einzelnen Linien beschrieben worden, sie betreffen sowohl Defekte in der Expression einzelner Membranrezeptoren als auch in Signal-transduzierenden Molekülen in Lymphozyten. Die **X-chromosomale Agammaglobulinämie** beruht z.B. auf der fehlenden Expression der Tyrosinkinase btk, die in einer frühen Phase der B-Zellreifung benötigt wird. Defekte sind auch beschrieben worden in verschiedenen Komponenten des TCR, die dann zu Ausfällen des T-Zellsystems führen. Beispiele von Defekten, die die Kommunikation der Zellen betreffen, sind z.B. der Defekt des CD40-Liganden (führt zum **Hyper-IgM-Syndrom**) oder der Defekt der signaltransduzierenden γ-Kette, die den Rezeptoren für IL-2, IL-4, IL-7 und IL-13 gemeinsam ist (führt zum **X-chromosomalen SCID).** Viele Immundefekte verlaufen ohne klinische Manifestationen. Ein typisches Beispiel ist der sog. angeborene **selektive totale IgA-Mangel,** ein relativ häufiger Defekt, bei dem IgM die Funktionen des IgA übernehmen kann. Die Möglichkeit, gezielt Gene aus der Keimbahn von Mäusen durch genetische Rekombination zu entfernen **(„k.o.-Mäuse“),** hat interessante Einblicke in die Funktion vieler immunologisch wichtiger Moleküle gegeben und erlaubt es, Modelle für angeborene Immundefekte zu etablieren.
Immundefekte können auch erworben werden, am bekanntesten bei der Infektion mit dem HIV. Hier ist zwar der Verlust der CD4$^+$ T-Zellen be-

1



natürliche Weise zwischen beiden übertragen werden können. **Anthropozoonosen** werden vom Menschen auf Wirbeltiere, **Zooanthroponosen** vom Wirbeltier auf den Menschen übertragen (Tab. 1.10).
Die Aufnahme virulenter Mikroorganismen kann zu einer Infektion, d.h. zu deren Ansiedlung und Vermehrung führen und damit zur biologischen Auseinandersetzung des Wirtsorganismus mit dem Erreger. Menschen und Tiere, welche Krankheitserreger aufgenommen haben, d.h. in oder an sich tragen, bezeichnet man als **infiziert,** Stoffe und Gegenstände, die mit ihnen behaftet sind, als **kontaminiert.** Tierische Lebensmittel können infiziert oder kontaminiert sein, je nachdem, ob sie von infizierten Tieren stammen oder mit Krankheitserregern sekundär verunreinigt sind.
Sekundäre Infektionsquellen sind z.B. kontaminierte Gegenstände oder infizierte Lebensmittel. Bieten sie Vermehrungsmöglichkeiten (z.B. Milch), können sie zu Massenerkrankungen führen. Bei manchen Infektionen ist das primäre Erregerreservoir außerhalb von Mensch und Tier zu suchen (z.B. Legionellen in Warmwasserleitungen; Erde kann Sporen von Tetanus- und/oder Gasbrandbazillen enthalten, die über Wunden in den Körper gelangen).

Tab. 1.10 Beispiele von Zooanthroponosen und Vektor-übertragenen Infektionen

Erkrankung beim Menschen	Erreger	tierisches Reservoir	Ektoparasiten als Vektor
bakterielle Infektionen			
Campylobakteriose	thermophile *Campylobacter* spp.	Geflügel, Schweine u.a.	–
enterale Salmonellose	*Salmonella enterica*	Rinder, Schweine, Geflügel u.a.	–
Fleckfieber	*Rickettsia* spp.	Nagetiere	Läuse, Flöhe, Milben
Leptospirosen	*Leptospira* spp.	Ratten, Hunde, Feldmäuse u.v.a.	–
Lyme-Borreliose	*Borrelia* spp.	Rotwild, Mäuse,Vögel u.v.a.	Zecken
Maltafieber, Morbus Bang	*Brucella* spp.	Rinder, Schafe, Ziegen	–
Ornithose (Psittakose)	*Chlamydia psittaci*	Papageien u.a. Vögel	–
Pest	*Yersinia pestis*	Ratten u.a. Nagetiere, Hunde	Flöhe
Q-Fieber	*Coxiella burnetii*	Rinder, Schafe, Ziegen, Nagetiere	Zecken
Tularämie	*Francisella tularensis*	Feldhasen u.a. Nagetiere u.v.a.	Zecken u.a. Arthropoden
Yersiniose (enteral)	*Yersinia enterocolitica*	Schweine, Hunde, Katzen u.a.	–
Milzbrand	*Bacillus anthracis*	Rinder, Schweine, Schafe, Ziegen	–
parasitäre Infektionen			
Chagas-Krankheit	*Trypanosoma cruzi*	Hunde, Katzen, Ratten u.v.a.	Raubwanzen
Echinokokkose	*Echinococcus* spp.	Hunde, Füchse	–
Leishmaniasen	*Leishmania* spp.	Hund, Nagetiere u.a.	Phlebotomen
Malaria	*Plasmodium* spp.	Affen	*Anopheles*
Schlafkranklheit	*Trypanosoma brucei*	Wildtiere, Rinder	*Glossina*
Toxoplasmose	*Toxoplasma gondii*	Schweine, Katzen u.v.a.	–
virale Infektionen			
Frühsommer-Meningoenzephalitis	FSME-Virus	Vögel, Rehe	Zecken
Gelbfieber	Gelbfiebervirus	Affen	*Aedes* u.a. Mückenarten
Tollwut	Rabiesvirus	Füchse u.a. Wildtiere, Hunde, Katzen	–

Übertragungswege

Die von Menschen und Tieren mit Körperflüssigkeiten (Blut), mit Sekreten oder Exkreten ausgeschiedenen Erreger gelangen über das kontaminierte Material direkt oder von der jeweiligen Austrittspforte (Mund, Nase, Haut, Schleimhaut, Wunden, After, Harnröhre) zur Eintrittspforte des Menschen. Eine direkte Übertragung ist die Inokulation des Erregers durch den Biß blutsaugender Arthropoden. Die Übertragungswege beeinflussen die Ausbreitung einer Infektionskrankheit ebenso wie die Infektionsquellen. Sowohl die **direkte Übertragung** durch Kontakt von Mensch zu Mensch, von Tier zu Mensch oder von Tier zu Tier ist so bedeutsam wie **indirekte Wege** über ein Infektionsvehikel (z.B. kontaminierte Lebensmittel, Staubpartikel, Gebrauchsgegenstände u.a.). Manche Erreger sind auf eine unmittelbare Übertragung angewiesen, da sie in der Außenwelt nicht lange überlebensfähig sind (z.B. Gonokokken, Meningokokken, Immundefizienzviren u.a.).
Eine **vertikale** Übertragung erfolgt *diaplazentar* von der Mutter auf den Föten (z.B. Toxoplasmose, Syphilis, Listeriose, Röteln, Varizellen). Auf die **iatrogene** Übertragung von Infektionen infolge ärztlicher oder medizinischer Maßnahmen (z.B. unsterile Instrumente, Bluttransfusi-

Pathogenität der Erreger

Die Erreger tragen zum Ausbreitungsmuster einer Infektionskrankheit mit konstanten und variablen Eigenschaften bei. Diese lassen sich unter dem Begriff der **Pathogenität** zusammenfassen, wobei zwischen obligat und fakultativ pathogenen Erregern unterschieden wird. Der Grad der Pathogenität wird auch als **Virulenz** definiert. Weitere für die Ausbreitung wichtige Erregereigenschaften sind Umweltresistenz und Wirtsadaptation. Gemeinsam mit den Pathogenitätsfaktoren bestimmen sie die Übertragbarkeit einer Infektionskrankheit, die Lokalisation der Eintrittspforten, die Ausbreitung der Erreger im Wirtsorganismus sowie ihre Ausscheidung. Es lassen sich daher **kontagiöse** (ansteckende; z.B. Varizellen) von **nicht-kontagiösen** (nicht-ansteckenden; z.B. Borreliose) Infektionskrankheiten unterscheiden, wobei epidemiologische Veränderungen vom Wandel in der Virulenz eines spezifischen Erregers beeinflußt werden.

Resistenz des Wirtsorganismus

Der Wirtsorganismus hat dem Infektionserreger die *natürliche Resistenz* und die *erworbene Immunität* entgegenzusetzen. Die **Empfänglichkeit**

Umweltfaktoren

Die **örtliche Disposition** umfaßt die speziellen klimatischen und geographischen Verhältnisse, die Lebensbedingungen für tierische Vektoren und menschliche Überträger, besonders aber die Lebensbedingungen innerhalb einer Bevölkerung, wie Bevölkerungsdichte, Lebensgewohnheiten und Gebräuche, Wohnverhältnisse, die berufliche Exposition am Arbeitsplatz, Bevölkerungswanderung, Tourismus und Verkehr. Dazu gehören aber auch die sozioökonomischen und soziomedizinischen Verhältnisse und der Ernährungszustand innerhalb einer Population.
Die **Ausbreitung** übertragbarer Infektionskrankheiten wird bestimmt durch das Zusammenwirken typischer Merkmale der Erreger und der Wirtsorganismen und Umweltfaktoren. Dabei führen der Wandel der Erregervirulenz und/oder die Lebensbedingungen in der Umwelt zu *epidemischen Verdichtungswellen*. Hierbei kann es sich um gelegentliche oder um kontinuierliche, progrediente Ereignisse handeln; häufiger aber treten diese Verdichtungswellen mit einer jahreszeitlichen *(saisonalen)* oder über Jahre verteilten **Periodizität** *(säkularer Rhythmus)* auf. Als typische Beispiele seien das epidemisch progredient verlaufende *erworbene (engl. „acquired") Immundefizienz Syndrom (AIDS)*, die saisonalen *Influenza-Pandemien* oder das säkulare Auftreten der *Diphtherie* erwähnt. Der Spätsommer-Herbstgipfel bei enteralen Infektionen oder das Auftreten der Cholera in subtropischen und tropischen Entwicklungsländern sind weitere Beispiele für klimatisch bedingte epidemische Infektionskrankheiten.

1.3.4 Spektrum der Infektionskrankheiten

Die bemerkenswerteste Tatsache in der Epidemiologie übertragbarer Infektionskrankheiten ist ihr Wandel in den Industrieländern innerhalb [illegible]

So verstarben etwa während der „Pest des Thukydides" 429 v. Chr. im antiken Athen angeblich 50 000 Personen (es handelte sich aber nicht um die Pest nach heutigem Verständnis, sondern vermutlich um eine Fleckfieberepidemie) oder während der verheerenden Pockenepidemien im 18. und teilweise bis Anfang des 19. Jahrhunderts noch Hunderttausende von Menschen. Typhus und Diphtherie nehmen, wie bis vor kurzem auch die Tuberkulose, in Mitteleuropa an Häufigkeit ab. An ihre Stelle sind in den Industrieländern als typische Zivilisationsseuchen andere Infektionen getreten, wie die enteralen Infektionen oder die infektiösen Hepatitiden. Obwohl man auch ihre Übertragungswege inzwischen aufgeklärt hat, sind diese im Einzelfall häufig so komplex, daß eine Verfolgung der Glieder innerhalb der Infektionskette kaum möglich ist.

Infektionsepidemiologie in Deutschland

Betrachtet man die geschätzte Inzidenz *aller* Infektionskrankheiten, so stellen in Deutschland die akuten respiratorischen Erkrankungen mit mehr als 80% den überwiegenden Anteil dar, gefolgt von den endemischen übertragbaren Kinderkrankheiten Masern, Mumps, Windpocken, Röteln, Keuchhusten, Scharlach sowie von den Nosokomialinfektionen und Parasitosen. Die meldepflichtigen Infektionskrankheiten folgen mit kaum mehr als 300 000 gemeldeten Fällen.
Die relativen epidemiologischen Verhältnisse, von lokalen Besonderheiten abgesehen, sind weitgehend vergleichbar mit denen anderer Industrieländer. Unter den bis zum Inkrafttreten des Infektionsschutzgesetzes meldepflichtigen Infektionskrankheiten (Abb. 1.30) überwiegen nach der Anzahl der gemeldeten Fälle die enteralen Salmonellosen, die Gonorrhoe, die Tuberkulose und die Virushepatitiden. Bei den akuten [illegible]

1


N x 10³
N x 10³
120
100
80
250
200
Enteritis infec. (übrige)
enter. Salmonellose
Gonorrhoe

fall zu erfolgen, u.a. bei Botulismus, Diphtherie, nicht-hereditärer humaner spongioformer Enzephalopathie, akuter Virushepatitis, enterpathischem hämolytisch-urämischem Syndrom, Masern, Meningokokken-Meningitis/Sepsis, Poliomyelitis, Tollwut. Eine größere Zahl weiterer Erreger bzw. Erkrankungen sind seit Inkrafttreten des *Infektionsschutzgesetzes* künftig von den diagnostischen Laboratorien bei akuten Erkrankungen zu melden. Zur Meldung verpflichtet sind Ärzte/Tierärzte, Krankenhäuser, Untersuchungslaboratorien oder sonstige Personen mit verantwortlichen Aufgaben, die Kenntnis von einer der in den Gesetzen genannten Infektionen erhalten. Die Schutzmaßnahmen umfassen im wesentlichen die Verpflichtung zur Meldung an die überwachenden Institutionen (Gesundheitsämter, Länderbehörden, das Robert Koch Institut in Berlin, ggf. Länder- und Bundesgesundheitsminister) und die Ermittlungs- und Bekämpfungspflicht. Zu diesen zählen u.a. die Untersuchung von Kontaktpersonen, Berufsverbot bzw. -einschränkungen von Ausscheidern, die im Lebensmittelgewerbe tätig sind, oder Desinfektionsmaßnahmen zur Beseitigung von sekundären Infektionsquellen und Übertragungswegen. Präzisiert wurden ferner die Rechtsvorschriften zur Durchführung von Schutzimpfungen, Impfstoffen und Impfdokumentation (IfSG §§ 20, 21, 22).

Die **prophylaktischen Aufgaben** der Gesundheitsorgane bei der Verhütung von Seuchen basieren in Grundzügen ebenfalls auf den gesetzlichen Regelungen. Sie erfordern die Erfassung der Morbiditäts- und Mortalitätsraten, deduktive Erhebungen über Virulenzeigenschaften der Erreger und Risikofaktoren in Bevölkerung und Umwelt. Zu den vorbeugenden Vorschriften zählen u.a. die Maßnahmen zur Verhütung einer Ausbreitung von übertragbaren Infektionskrankheiten (Untersuchungspflicht, Quaran-

fektionsprävention sowie zur Erfassung multiresistenter Infektionserreger herausgegeben worden. Die Empfehlungen befassen sich mit der rechtzeitigen Feststellung von Nosokomialinfektionen und Epidemien. Sie ergänzen und aktualisieren die Richtlinien für die Erkennung, Verhütung und Bekämpfung von Krankenhausinfektionen des ehemaligen Bundesgesundheitsamtes, welche die funktionellen und baulichen Einrichtungen und Anforderungen an die Ausstattung von Krankenhäuser sowie den organisatorischen Ablauf des Krankenhausbetriebes regeln. Nach ihnen lassen sich die Krankenhausbereiche ihrem Infektionsrisiko entsprechend einteilen. Ferner sind die krankenhaushygienischen Aufgaben des ärztlichen und sonstigen medizinischen Personals definiert und die Einrichtung von Hygienebeauftragten und Hygienekommissionen festgelegt worden.

Darüber hinaus behandeln die Richtlinien die hygienischen Belange im Versorgungs- und technischen Bereich der Krankenhäuser (Sterilisation und Desinfektion, Wäscheentsorgung und Aufbereitung, Abfallbeseitigung, Klimaanlagen usw.), aber auch in Arztpraxen und sonstigen medizinischen Einrichtungen.

Literatur

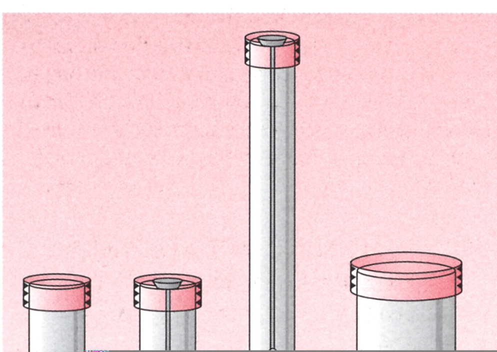
BARKER, D. J. P., C. COOPER, and G. ROSE: Epidemiology in Medical Practice, 5th ed., Churchill Livingstone, New York 1998.

Gesetz zu Neuordnung seuchenrechtlicher Vorschriften. (Seuchenrechtsneuordnungs-Gesetz). Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz), Bundesgesetzblatt I, 1045 (2000).

MCGOWAN, J. E. JR and B. G. METCHOCK: Infection control epidemiology and clinical microbiology. In: MURRAY, P. R. et al. (eds.) Manual of Clinical Micro-

2 Mikrobiologische Diagnostik

2



2.1.2 Transportmedien und -systeme

(Verschiedene Transportmedien in guter Qualität sind im Handel erhältlich.) Einige Krankheitserreger des Menschen sind so eng an ihren Wirt angepaßt, daß sie in der Außenwelt rasch absterben. Um solche Erreger trotzdem zur ätiologischen Diagnostik zuverlässig anzüchten zu können, muß man sie entweder unmittelbar vom Kranken in geeignete Nährmedien einbringen oder während des Transports durch spezielle

benkonzentrationen im Ausgangsmaterial erlauben, sofern ihre Beimpfung standardisiert wird (z.B. Objektträgerkultur). Objektträgerkulturen können am Entnahmeort bebrütet werden; nur die bewachsenen Medien werden dann bei Umgebungstemperatur zur weiteren Bearbeitung an das untersuchende Laboratorium geschickt. Alternativ kann die beimpfte Objektträgerkultur ohne Vorbebrütung versandt werden.

4 **Medien ohne Nährstoff- und Energiequellen**

bestimmt. Wenn irgend möglich und dem Patienten zumutbar, sollten Verunreinigungen der Untersuchungsmaterialien durch die körpereigene Haut- oder Schleimhautoberflächenflora vermieden werden, da die Anwesenheit fakultativ pathogener Vertreter der Normalflora nahezu unausweichlich zu Interpretationsschwierigkeiten führt. Die entnommene **Materialmenge** sollte ausreichend groß sein, um falsch-negative Befunde zu vermeiden. Tupferabstriche aus Hohlräumen, aus denen unmittelbar vorher größere Eiter- oder Exsudatmengen entleert wurden, sind grundsätzlich als inadäquat zu bewerten.

Der Entnahmeort. Er sollte möglichst immer an der Stelle oder in der Region des Körpers liegen, wo das Infektionsgeschehen auch tatsächlich abläuft.

Leider ist der *primäre Infektionsherd* aber nicht immer bekannt oder liegt in inneren Organen, die ohne eingreifende operative Maßnahmen nicht erreichbar sind. In diesen Fällen muß man sich gegebenenfalls mit Materialien begnügen, in die die Erreger erfahrungsgemäß vom Parenchymherd aus übertreten oder über die sie ausgeschieden werden und die technisch einfach und gefahrlos zu gewinnen sind. Man muß sich dabei aber vergegenwärtigen, daß dieses Vorgehen häufig nur indirekte Rückschlüsse auf die pathogenetischen Vorgänge im betroffenen Organsystem erlaubt und deshalb zu diagnostischen Fehlschlüssen führen kann, insbesondere wenn es sich um Ex- oder Sekrete handelt, die *per vias naturales* ausgeschieden werden. Deshalb lassen sich in manchen Fällen **eingreifende Entnahmetechniken** nicht umgehen, wenn eine eindeutige diagnostische Aussage erzielt werden soll. Dies gilt z.B. für die transtracheale Sekretaspiration oder die transthorakale Lungenpunktion bei Verdacht auf pulmonale Anaerobierinfektion, die perkutane Nadelbiopsie zur Diagnostik tief gelegener Abszesse oder die suprapubische Blasenpunktion zur exakten Diagnose von Harnwegsinfektionen.

Der optimale Entnahmezeitpunkt. Er ist für verschiedene Untersuchungsstoffe in Abhängigkeit von der vorhandenen Erregerart (siehe z.B. Typhus abdominalis) zum Teil recht unterschiedlich und kann deshalb nicht generell oder schematisch festgelegt werden. Jede Erstentnahme, gerade bei hochakuten Krankheitsbildern, sollte jedoch unbedingt **vor Beginn einer antimikrobiellen Chemotherapie** erfolgen, um falsch-negative Kulturergebnisse zu vermeiden. Dadurch darf natürlich die vielleicht lebensrettende Sofortbehandlung nicht verzögert werden, mit der unmittelbar nach der Materialentnahme begonnen werden kann. Nur in bestimmten Fällen, etwa zur Kontrolle der Wirksamkeit eines Therapeutikums oder bei Ausbleiben jeglicher Besserung, kann auch einmal eine Untersuchung unter der antibiotischen Behandlung sinnvoll sein. Allerdings muß dann der Mikrobiologe über Art und Dosierung der angewandten Pharmaka ausreichend informiert werden.

Akute virale Erkrankungen. In diesem Fall sind Proben für den Virusnachweis möglichst in der Frühphase der klinischen Erscheinungen zu entnehmen. Im Gegensatz zu Bakteriologie und Mykologie haben in der virologischen Diagnostik Tupferabstriche (Nasen-, Konjunktival-, Mundschleimhaut-, Rachenabstriche) sowie Spülflüssigkeiten und Gurgelwasser große praktische Bedeutung.

Parasitologischen Diagnostik. Dabei ist für die Auswahl geeigneter Untersuchungsstoffe auch noch die Entwicklung des Parasiten im menschlichen Wirt (Mensch als End- und/oder Zwischenwirt) mit Ort und Zeitpunkt des Auftretens diagnostischer Stadien zu berücksichtigen. Außerdem werden z.T. spezielle Materialien (z.B. Hautstanzen) oder Entnahmeverfahren (z.B. Klebestreifenabklatsch von Analregion) benötigt.

Die wichtigsten Gesichtspunkte und Fehlerquellen, die bei der Gewinnung und Handhabung der verschiedenen Materialarten im einzelnen zu berücksichtigen sind, werden im folgenden kurz dargestellt.

Biopsie-, Operations- und Sektionsmaterial

Operations- und Biopsiematerial. Ganze Organe, Organteile oder mehrere Gewebeproben aus verschiedenen Organbezirken, die *intra vitam* unter aseptischen Bedingungen erhalten werden können, werden zur Vermeidung akzidenteller Verunreinigungen unverzüglich in sterile Gefäße (bei kleineren Gewebsproben in eines der genannten Transportgefäße, bei Organen oder größeren Organteilen in sterile Weithalsflaschen oder sterile Plastikbeutel) gegeben und ohne Zusätze gut verschlossen und möglichst rasch (autolytische Veränderungen!) zur Untersuchungsstelle gebracht. Für längeren Transport ist eine Kühlung mit Eiswürfeln empfehlenswert. Sehr kleine Gewebsproben sollten durch Zugabe von einigen Tropfen steriler Kochsalzlösung feucht gehalten werden oder auf die Oberfläche eines STUART-Transportmediums (in Röhrchen mit Schraubverschluß) aufgebracht werden (Tab. 2.1).

Sektionsmaterial. Die Probenentnahme sollte in jedem Falle bald nach Todeseintritt erfolgen

Tab. 2.1 Transportbedingungen für verschiedene menschliche Untersuchungsmaterialien[1]

Transportmedien/ -verfahren	Transporttemperatur +4 °C	+25 °C (Umgebungstemperatur)
keine (nativ)	Sektionsmaterial, Bronchialspülflüssigkeit, Katheterspitzen, Liquor (auf Viren), Lungenbiopsat, Perikarderguß, Sputum, Urin	Liquor (auf Bakterien), Synovialflüssigkeit
anaerober Transport oder anaerobes Transportmedium		Exsudate aus Bauchhöhle, Amnionflüssigkeit, Punktate, Galle, IUP auf Aktinomyzeten, transthorakale und transtracheale Aspirate, Plazenta, Nebenhöhlenaspirate, Gewebe, Blasenpunktionsurin
unmittelbare Beimpfung von Kulturmedien		Hornhautgeschabsel, Blutkulturen, Material zum Nachweis von *B. pertussis*, Material zum Nachweis von *N. gonorrhoeae*, Augenkammerwasser
aerobe Transportmedien[2]	Verbrennungswunden-Biopsate, Rektalabstriche auf *Campylobacter* spp., *Shigella* spp., *Vibrio* spp., *Yersinia* spp., Abstriche bei Otitis externa	Knochenmark, Material zum Nachweis von *Bordetella* spp., Zervixabstriche, Bindehautabstriche, Material zum Nachweis von *Corynebacterium* spp., Innenohrabstriche, Material aus Genitaltrakt, Nasopharynx und oberem Respirationstrakt, Material zum Nachweis von *Neisseria* spp. oder *Salmonella* spp.

[1] modifiziert nach Miller und Holmes, 1999;
[2] z.B. Stuart-Medium, Amies-Medium, Cary-Blair-Medium

(kritischer Zeitraum etwa 6 Stunden), da es später zu einer Ausbreitung von Zersetzungsbakterien aus dem Verdauungstrakt des Toten kommt. Um trotz der großen Kontaminationsgefahr bei der Sektion zu brauchbaren Untersuchungsergebnissen zu kommen, können zwei Wege zur Materialgewinnung beschritten werden:

1. Man verzichtet auf jede Dekontamination am Sektionstisch, entnimmt ein größeres (wenigstens 2 × 2 × 2 cm) zusammenhängendes Gewebestück, kühlt sofort auf 0 bis +4 °C und läßt die Probe ohne Unterbrechung der Kühlkette durch Boten dem Laboratorium überstellen. Es obliegt dann dem Mikrobiologen, unter besonderen Vorkehrungen nicht verunreinigtes Gewebe aus dem Zentrum des Stückes herauszupräparieren.
2. Man versucht durch Abbrennen, Abglühen oder kurzes Eintauchen (einige Sekunden) in kochendes Wasser eine Desinfektion der Organoberfläche zu erreichen, exzidiert dann unter mehrfachem Wechsel steriler Instrumente mehrere kleinere Gewebsstücke aus dem Zentrum und handhabt die Probe anschließend wie bioptisch gewonnenes Material (s. Tab. 2.1).

Blut und Sternalmark

Blutkulturen. Da die Erreger von septischen oder zyklischen (polysystemischen) bakteriellen oder pilzlichen Infektionskrankheiten häufig nur in geringer Zahl und/oder intermittierend in die Blutbahn ausgeschwemmt werden, darf das Volumen der einzelnen Blutprobe nicht zu klein sein (beim Erwachsenen 10–20 ml), bei Kindern 1–10 ml, und es sind mehrere (3 in 24 Stunden), zu verschiedenen Zeitpunkten und eventuell an verschiedenen Orten entnommene Proben zu untersuchen, um die Erreger sicher aufzufinden. Als günstigster Entnahmezeitpunkt gilt der Beginn eines Fieberanstiegs. Da er aber oft nicht bestimmbar ist, verpaßt wird oder die Mikrobeneinschwemmung in die Blutbahn dem Fieberanstieg deutlich vorausgehen kann, hat sich, ins-

besondere nach amerikanischen Erfahrungen, folgendes Vorgehen bewährt:
Bei Patienten mit Verdacht auf **akute bakterielle Endokarditis** reichen in der Regel 3 separate Blutproben zur Sicherung der Diagnose aus, die innerhalb von 1–2 Stunden an 3 verschiedenen Stellen abgenommen werden. Zur Diagnose der **subakuten Endokarditis** werden 3 Proben im Abstand von wenigstens 15 Minuten entnommen. Bleiben diese nach 24stündiger Bebrütung negativ, werden weitere 3 Proben untersucht. Bei **akuter Sepsis** werden 3 Blutproben von 3 verschiedenen Entnahmestellen innerhalb von 10 Minuten gewonnen. Wurde der Patient bereits antibiotisch behandelt, sind häufig 4 bis 6 separat entnommene Blutproben erforderlich, um den Erreger doch noch aufzufinden. Bleibt Venenblut trotz klinischer Sepsiszeichen in der Kultur wiederholt steril, gelingt die Anzüchtung der Erreger manchmal noch aus arteriellem Blut oder Sternalpunktat. Zur ätiologischen Abklärung von „Fieber unklarer Ursache" werden 3 Proben von verschiedenen Entnahmestellen im Abstand von wenigstens einer Stunde entnommen; bei negativem Kulturergebnis nach 24 Stunden werden weitere 3 oder mehr Proben benötigt.
Häufiger als allgemein angenommen kommt es bei der Gewinnung von Blutproben zu **sekundären „Verunreinigungen".** Diese lassen sich nur durch streng aseptisches Arbeiten vermeiden. Dazu gehören die zuverlässige, zweiphasige Hautdesinfektion an der Punktionsstelle (erst Anwendung von Alkoholen, dann von Jodtinktur, PVP-Jod oder Jodersatzmitteln mit jeweils ausreichender Einwirkungszeit), die sorgfältige chirurgische Händedesinfektion des Entnehmenden oder der Gebrauch steriler Handschuhe, die Vermeidung unnötiger Manipulationen (z.B. Umfüllen des Blutes) nach der Entnahme und die Verwendung sterilen Instrumentariums.
Um ein ungewolltes **Absterben der Erreger** während des Transportes zu verhindern (bei generell empfindlichen Mikroben, durch Antibiotika-Nachwirkung oder Blutbakterizidie), sind heute spezielle Transportmedien, die sogenannten Blutkulturflaschen, unerläßlich. Diese enthalten zumeist Liquoid® (Na-Polyanetholsulfonat, das die Blutbakterizidie hemmt, manche Antibiotika in ihrer Wirkung abschwächt und Blut ungerinnbar macht) und eine hochwertige Nährlösung. Sie bewirken gleichzeitig eine Verdünnung und Hemmung bakterienschädigender Faktoren im Blut, wenn das Verhältnis von Blut zu Nährmedium in der Größenordnung von 1:10 liegt. Im Laboratorium dienen diese Blutkulturflaschen unmittelbar zur Primärkultur.
Die im Handel erhältlichen Systeme (z.B. der Firmen Becton Dickinson, Biotest, Organon Teknika) sind in der Regel evakuiert, so daß sie mit einem sterilen Entnahmebesteck direkt beschickt werden können. Verhindert man Luftzutritt bei der Füllung, lassen sich mit ihnen Anaerobier recht zuverlässig nachweisen, wenn die Kulturflüssigkeit, wie meist der Fall, ausreichende Qualität besitzt und unter CO_2 abgefüllt wurde. Es gibt aber auch spezielle Medien für Anaerobier, die auf Na-Polyanetholsulfonat verzichten, da es das Wachstum von *Peptostreptococcus anaerobius* hemmt, und die gegebenenfalls Organstückchen analog der TAROZZI- oder ROSENOW-Bouillon enthalten. Zur Anzüchtung obligater Aerobier müssen evakuierte Flaschen nach der Blutzugabe über ein bakteriendichtes Filter mit Luft geflutet werden. Üblicherweise werden pro Entnahme je eine aerobe und eine anaerobe Flasche beschickt; die oben genannten Zahlen beziehen sich jeweils auf ein solches Pärchen als „Probe". Neuerdings wird von einigen amerikanischen Autoren aber empfohlen, eine zweite aerobe oder eine mit einem Pilznährmedium gefüllte Flasche anstelle der anaeroben zur Erzielung einer optimalen diagnostischen Aussage zu verwenden.

Einige moderne kommerzielle Blutkultursysteme enthalten zusätzlich Harze, die Antibiotika binden sollen und deshalb auch bei bereits eingeleiteter Chemotherapie noch brauchbare Kulturergebnisse liefern können. Zur Beschleunigung und Ökonomisierung der Blutkulturdiagnostik werden heute überwiegend Blutkulturautomaten verwendet, in denen die Bebrütung der Flaschen erfolgt und die mikrobielles Wachstum frühzeitig, z.B. an vermehrt freigesetztem CO_2 oder an pH-Verschiebungen des Mediums, erkennen und dies auch akustisch und optisch anzeigen.

Blutkulturflaschen sind auch als Transport- und Züchtungsmedien für *andere flüssige Untersuchungsmaterialien*, insbesondere *Sternalpunktate* und *Knochenmarkstanzen* bei Verdacht auf Brucellose oder generalisierende Pilzinfektion, geeignet, wenn es um den Nachweis sehr empfindlicher Erregerarten geht und wenn eine Quantifizierung der Mikroben nicht erforderlich ist. Auch bei Verdacht auf Sepsis durch schnell wachsende Mykobakterien oder Nocardien sollten Blutkulturflaschen beimpft werden. *Leishmania donovani*, Trypanosomen und Plasmodien werden dagegen in gefärbten Ausstrichpräparaten von Sternalpunktat nachgewiesen.

Der **Transport** der Blutproben sollte, schon wegen der Gefährlichkeit septischer oder zyklischer Infektionskrankheiten, grundsätzlich so schnell wie möglich vorgenommen werden. Wenn längere Zeiten zwischen Entnahme und Verarbeitung unvermeidbar sind, werden Blutkulturflaschen schon am Entnahmeort bei 36±1 °C vorbebrütet (bei den Verfahren mit CO_2-Nachweis nicht so günstig), um das Kulturergebnis zu beschleunigen. Aber auch Umgebungstemperatur führt in den meisten Fällen nicht zum Absterben der Erreger (s. Tab. 2.1).

Blut zum Antikörpernachweis. Für serologische Untersuchungen wird in der Regel Venenblut in einer Menge von 5 bis 8 ml benötigt, das ohne Zusätze nativ in ein steriles „Blutröhrchen" (Abb. 2.1a) gefüllt wird. Entnahme und Transport sind meist nicht kritisch. Nur bei hohen und sehr niedrigen (Frost) Außentemperaturen ist es zur Vermeidung von Hämolysevorgängen günstiger, das Serum unter sterilen Bedingungen abzutrennen und dem Laboratorium allein zuzustellen. Liegt der Verdacht auf eine akute Erkrankung vor, sollte eine Serumprobe möglichst bald nach Krankheitsbeginn und eine weitere 10–14 Tage später entnommen werden, um Bildung und Anstieg spezifischer Antikörper zuverlässig erfassen zu können. Ist das Vorliegen von Störfaktoren bekannt, die häufig zu Verfälschungen der Ergebnisse serologischer Tests führen, sollte die Untersuchungsanforderung Hinweise darauf enthalten. Störungen serologischer Teste (z.B. falsch-positive Ergebnisse) können auftreten bei Gammopathien, dem Vorhandensein von Kälteagglutininen, Kryoglobulinen, Rheumafaktoren und Autoantikörpern sowie nach Gabe von Immunglobulinpräparaten,

und Gramfärbung), die oft eine Schnelldiagnose und allein eine sofortige Beurteilung des Zellbefundes erlauben.

Da mit sehr empfindlichen Erregern zu rechnen ist, muß der **Transport** des nativen restlichen Liquors (in einem gut verschlossenen Gefäß) rasch erfolgen, wenn die Kultur sichere Ergebnisse erbringen soll. Bei Verdacht auf bakterielle Meningitis wird die Probe bei Raum-(Umgebungs-)Temperatur gehalten; sie sollte keinesfalls gekühlt werden. Eine parallel gewonnene Blutkultur kann die diagnostische Aussage zuweilen erheblich verbessern oder beschleunigen (s. Tab. 2.1). Längere Transportzeiten überstehen empfindliche Meningitis-Erreger zuweilen besser, wenn das Material in nicht zu geringer Menge in eine Blutkulturflasche gegeben wird. Allerdings sind konventionelle Blutkulturmedien für einige der besonders anspruchsvollen, bakteriellen Meningitiserreger nur bedingt brauchbar. Bei Verdacht auf *Meningitis tuberculosa* kommt dieses Vorgehen überhaupt nicht in Betracht.

Zum Nachweis von Protozoen (Toxoplasmen, Amöben) und Viren sind ebenfalls besondere Gesichtspunkte zu beachten. Parasiten und Anaerobier lassen sich eher aus Abszeßaspirat oder Biopsieproben nachweisen als aus Liquor. Gerade nach längerer Transportdauer oder bei Proben, die nach Antibiotikagaben abgenommen wurden, kommt dem Antigennachweis große praktische Bedeutung zu. Wird eine Liquorprobe zum Nachweis erregerspezifischer Antikörper entnommen, sollte stets parallel eine Blut- bzw. Serumprobe gewonnen werden.

Pleura-, Perikardial-, Peritoneal- und Synovialflüssigkeiten. Für diese Materialien gelten

ein flexibler Stieltupfer hilfreich, um auch schwerer zugängliche Stellen einfach erreichen zu können. Finden sich membranöse Beläge, müssen diese zur Materialgewinnung von ihrer Unterseite oder vom Grund der Läsion angehoben werden. Zu lange Transportzeiten sind bei Tupfereinsendungen die wichtigste Ursache für negative oder irreführende Kulturergebnisse, da die Krankheitserreger hier besonders leicht durch Austrocknung und/oder Oxidation geschädigt werden können.
Zur bakteriologischen Diagnostik von Gingivitis, Parodontitis oder Stomatitis ulcerosa ist die Entnahmestelle zunächst sorgfältig zu reinigen. Dann wird infiziertes Gewebe abgetragen und sofort in ein Anaerobiertransportsystem überführt.
Nasennebenhöhlensekrete. Material aus den Nebenhöhlen wird meist durch Spülung gewonnen. Da Kochsalzlösung manche Erreger schädigt, ist als Spülflüssigkeit eher Ringer-Lösung mit Laktatzusatz zu empfehlen. Die schnelle kulturelle Weiterverarbeitung der Probe im Laboratorium ist eine weitere Voraussetzung für ein verwertbares Ergebnis. Bei kurzen Transportzeiten genügen dann auch die normalen Materialgefäße (s. Tab. 2.1).
Sputum, Bronchialsekrete. Sputum ist an sich ein wenig geeignetes Untersuchungsmaterial, da es selten eindeutige Ergebnisse liefert. Entscheidend für eine aussagefähigere Sputumdiagnostik ist, den Patienten anzuhalten, morgens den ersten Auswurf durch kräftiges Abhusten aus den tieferen Atemwegen und nicht nur Speichel zutage zu fördern. Der Auswurf wird entweder direkt in das dafür vorgesehene, weitlumige Versandgefäß (Abb. 2.1d) abgegeben oder zunächst in eine sterile Glasschale entleert, aus der dann unter sterilen Bedingungen eitrige oder flockige Bestandteile in das Transportgefäß umgefüllt werden. Wenn bei Tuberkulose-Verdacht Sputum über einen längeren Zeitraum gesammelt werden soll, ist jede Einzelportion bis zur Überstellung an das untersuchende Laboratorium bei 4 °C zu kühlen. Die Transportzeiten sollten generell kurz sein, da sonst erhebliche Veränderungen der mikrobiologischen Ausgangssituation eintreten (s. Tab. 2.1).
Da Sputum praktisch immer mit Mundbakterien kontaminiert ist, erhält man klarere Aussagen, wenn Sekret aus den tieferen Atemwegen direkt durch Bronchoskopie (geschützte Bürste) oder transtracheale Aspiration gewonnen wird. Bei Anaerobierinfektionen der Lunge ist letzteres Vorgehen nahezu die einzige Möglichkeit, zu einer verläßlichen Diagnose zu kommen.

Untersuchungsmaterial aus dem Verdauungskanal

Magen-, Duodenal-, Gallensaft. Eine direkte bakteriologische Diagnostik von Infektionen der Magenschleimhaut hat bis auf den Nachweis von *Helicobacter pylori* aus Biopsiematerial keine praktische Bedeutung. Magennüchternsaft wird aber zum Nachweis verschluckter, aus der Lunge stammender Tuberkelbakterien benutzt. Kann dieser Magensaft nicht alsbald für die Kultur oder den Tierversuch aufgearbeitet werden, sollte man die Probe vor dem Versand unter sterilen Bedingungen neutralisieren.
Duodenal- und Gallensaft (A-, B- und C-Galle) werden nach der Gewinnung über die Duodenalsonde getrennt in sterilen Röhrchen aufgefangen. Ihr Transport ist meist nicht übermäßig kritisch (Ausnahme: Lamblien).
Stuhl und Rektalabstriche. Stuhl für die mikrobiologische Diagnostik wird nicht in ein Toilettenbecken, sondern in ein sauberes Gefäß (Bettpfanne) ohne Urinbeimengung abgesetzt. Bei geformten Exkrementen wird mit dem Löffelchen eine etwa bohnengroße Portion aus dem mittleren Teil der Faeces in ein Stuhlröhrchen übertragen. Bei dünnflüssigem Stuhl genügen 0,5 bis 1 ml. In manchen Fällen ist es günstiger, mit einem Tupfer unter Drehung aus der Region proximal des *Sphincter ani* Material für die Untersuchung abzustreichen.
Obwohl die meisten darmpathogenen Bakterien relativ widerstandsfähig sind, können sie doch durch die bei Abkühlung und Saprophytenwucherung in der Stuhlprobe entstehenden Veränderungen (z.B. pH-Veränderung) geschädigt werden. Trotzdem haben sich bis auf die Fälle mit Cholera-Verdacht (alkalisches Peptonwasser) in Deutschland konservierende Transportmedien für Stuhleinsendungen kaum durchsetzen können. Man sollte deshalb wenigstens für eine schnelle Probenzustellung sorgen oder alternativ bzw. gleichzeitig einen Rektalabstrich verwenden, der in STUART- oder CARY-BLAIR-Medium transportiert wird (s. Tab. 2.1). Im Vergleich zum letztgenannten Vorgehen leistungsfähiger bleibt aber der Einsatz einer flüssigen Konservierungslösung, die zum Beispiel aus 0,033 M Phosphatpuffer und Glyzerin, zu gleichen Teilen gemischt, bestehen kann (für Enterobacteriaceae). Für Salmonellen und Shi-

gellen speziell eignet sich das Medium nach HAJNA.

Untersuchungsmaterial aus dem Urogenitalsystem

Urin. Urin passiert bei seiner Ausscheidung *per vias naturales* in der vorderen Harnröhre ein Gebiet, das eine natürliche mikrobielle Besiedlung aufweist, die sich qualitativ nicht vom Erregerspektrum der Harnwegsinfektionen unterscheiden muß. Dadurch kommt es oft zu einer starken sekundären Beladung des Harns mit diesen Schleimhautmikroben, welche die bakteriologische Diagnostik der „echten" Infektionen erheblich stören. Bei der Entnahme von Urinproben muß deshalb diese sekundäre Verunreinigung soweit wie möglich vermieden werden. Dazu sind die folgenden Techniken gebräuchlich:

1. Mittelstrahlurin (der Patient spült mit seiner ersten Harnportion die Harnröhre aus; aus der mittleren Portion wird ohne Anhalten des Strahls die Probe gewonnen).

Vorgehen beim Mann (in der Regel vom Patienten selbst auszuführen): Hände sorgfältig mit Wasser und Seife waschen, mit frischem oder Einweghandtuch abtrocknen; Vorhaut mit der einen Hand vollständig zurückziehen, mit der anderen Hand *Glans penis* mittels eines mit sauberem (sterilem) Wasser befeuchteten, sterilen Tupfers reinigen, mit zweitem Tupfer nachreinigen; Umgebung des *Orificium urethrae* mit drittem Tupfer trocknen; erste Urinportion (ca. 50 ml) in die Toilette oder ein Gefäß entleeren, dann – ohne den Harnstrahl zu unterbrechen – 5 bis 10 ml Harn in dem vorher griffbereit gestellten Transportgefäß auffangen, und zwar unter strikter Vermeidung einer Verunreinigung des Gefäßrandes durch Hand, Kleidung etc.; Verschluß sofort aufsetzen; Gefäß beschriften und bis zur Weiterleitung an das Laboratorium sofort in den Kühlschrank stellen; alternativ Urin in sterilem Einwegbecher auffangen und sofort einen Eintauchobjektträger beimpfen (s.u.).
Vorgehen bei der Frau (gegebenenfalls unter Hinzuziehung eines Hilfsperson): Unterwäsche ausziehen, Rock hochschlagen; Hände sorgfältig mit Wasser und Seife waschen und wie oben trocknen; mit einer Hand die Labien spreizen und so lange geöffnet halten, bis die Uringewinnung abgeschlossen ist; Vulva mit der anderen Hand mit angefeuchtetem Tupfer durch Wischen von vorn nach hinten reinigen und mit zweitem Tupfer nachreinigen; Bereich des *Orificium urethrae* mit drittem Tupfer trocknen und diesen in den *Introitus vaginae* einlegen; weiteres Vorgehen wie beim Mann bis auf die Empfehlung, grundsätzlich sterile Einwegbecher zu verwenden, aus denen der Urin gegebenenfalls anschließend in ein Transportgefäß umgefüllt

Trotz aller Vorsicht bleibt der Gehalt des Urins an Kontaminanten bei dieser Technik leider häufig noch hoch. Ein oder mehrere Kontrolluntersuchungen können aber zusätzliche Sicherheit für die Beurteilung der Untersuchungsergebnisse geben.

2. Katheterisieren der Harnblase bringt gegenüber dem obigen Vorgehen keinen prinzipiellen Vorteil, es kann aber den Patienten zusätzlich durch die mit dem Katheter hochgeschobenen Erreger belasten. Nur wenn aus anderen Gründen die Katheterisierung indiziert ist, kann Urin über diesen Weg – dann aber auch nach der Mittelstrahltechnik – für die bakteriologische Analyse gewonnen werden.

3. Suprapubische Blasenpunktion. Die einzige Möglichkeit, einen weitgehend kontaminationsfreien Harn zu erhalten, ist die Umgehung der Harnröhre durch diese Methode, die sich insbesondere zur Abklärung unklarer Fälle eingebürgert hat.

Da sich, außer bei der letztgenannten Entnahmetechnik, Verunreinigungen der Urinprobe nicht sicher vermeiden lassen, muß alles getan werden, um eine sekundäre Vermehrung dieser Mikroben während des Transportes zu verhindern, oder man muß wenigstens eine Aussage über die Mikrobenkonzentrationen bei der Entnahme machen können. Eine sekundäre Mikrobenvermehrung bis zur Ankunft der Probe im Laboratorium läßt sich ausschließen, wenn der Urin innerhalb einer Stunde nach Gewinnung zur Untersuchung kommt oder wenn man ihn von der Entnahme bis zur Ankunft im Labor ununterbrochen auf 4 °C kühlt (s. Tab. 2.1). Einfacher ist es allerdings, unmittelbar am Patienten einen nährbodenbeschichteten Objektträger (Objektträgerkultur, Eintauchobjektträger-Technik, Dip-Slide-Verfahren) in den Urin einzutauchen und das so beimpfte System als Transportmedium zu verwenden, dessen Überstellung an das Laboratorium bei richtiger Handhabung nicht kritisch ist.

Genitalsekrete. Harnröhren-, Prostata-, Zervikal- oder Vaginalsekrete können meist unter Sicht (Spekulum bei der Frau!) mit dem Tupfer entnommen werden. Versendung dieses Tupfers ohne besondere Vorkehrung wird aber meist negative Ergebnisse bringen, da gerade im Genitaltrakt mit empfindlichen Erregern zu rechnen ist. Auch wenn kein Gonorrhoe-Verdacht besteht, sollten deshalb Transportmedien wie das STUART-Medium, das Port-A-Cul®-Medium, das

2

auch Materialart und Entnahmezeitpunkt zu vermerken. Außerdem muß jeder Probe ein *Begleitschreiben* beigefügt werden, das möglichst alle der folgenden Informationen enthalten sollte: Personalien des Patienten (Name, Vorname, Geburtsdatum, Wohnanschrift, Krankenkassenmitgliedschaft, Patienten-Nr.), Art des Untersuchungsmaterials, Entnahmezeitpunkt (Tag, u.U. Uhrzeit), gewünschte Untersuchung(en) (z.B. Stuhl auf Salmonellen), Datum und eventuell Buchungsnummer früherer Einsendungen von demselben Patienten, Hinweise auf klinische Symptomatik und/oder Verdachtsdiagnose, Haupt- und Nebenlokalisationen des Krankheitsprozesses, bisheriger Verlauf (Beginn der klinischen Erscheinungen oder des Krankenhausaufenthaltes), Art und Dauer einer schon erfolgten antimikrobiellen Chemotherapie, genaue Anschrift des einsendenden Arztes mit Telefonnummer, bei Krankenhäusern auch Station. Personalien des Patienten (Probanden), Bezeichnung der Materialprobe, Entnahmezeitpunkt, Arztstempel und Unterschrift sind unabdingbare Voraussetzungen für Untersuchung und Befundmitteilung. Von den Untersuchungsstellen werden üblicherweise Begleitscheinvordrucke ausgegeben, die einfach auszufüllen sind und den Einsender an die genannten wichtigen Punkte erinnern.

Rechtsvorschriften für Transport und Versand von Untersuchungsmaterial und Erregerkulturen

Für den rechtskonformen Transport und Versand von menschlichem Untersuchungsmaterial und Erregerkulturen sind eine Reihe verschiedener nationaler und internationaler Vorschriften zu beachten. Die für deutsche Verhältnisse wichtigsten unter ihnen sind:

- die europäische Norm CEN EN 829 „Transportverpackungen für medizinisches und biologisches Untersuchungsgut – Anforderungen, Prüfung" von 1996;
- die Gefahrgutverordnung Straße – GGVS – mit Anlagen A und B des ADR (ADR-Rahmenrichtlinie 94/55/EG) von 1996;
- die Dangerous Goods Regulations der International Air Transport Association (IATA) von 1998;
- sowie die Regelungen über den Postversand von medizinischem und biologischem Untersuchungsgut von 1996.

Der Anwendungsbereich der **Norm CEN EN 829** beschränkt sich dabei auf Proben, bei denen

- das Nennvolumen der Probengefäße 100 ml nicht überschreitet,
- bei mehreren Proben das Gesamtvolumen der Proben im Schutzgefäß 500 ml nicht überschreitet,
- in der Probe keine ansteckungsfähigen Stoffe vorhanden sind oder eine verhältnismäßig geringe Wahrscheinlichkeit besteht, daß ansteckungsfähige Stoffe vorhanden sind.

Die Norm gilt deshalb formal für Untersuchungsgut im Rahmen von Routine-Überwachungsuntersuchungen oder im Rahmen der Erstdiagnose. Transportverpackungen für Untersuchungsgut, das bekanntermaßen ansteckungsgefährliche Stoffe der Risikogruppen 2 bis 4 nach WHO bzw. Biostoffverordnung enthält oder wahrscheinlich enthält, unterliegen den Regelungen für Gefahrguttransport.

Unter Transport versteht die CEN EN 829 die Ortsveränderung von Untersuchungsproben außerhalb des Grundstücks des Absenders oder Empfängers des Untersuchungsgutes. Sie gilt demnach nicht für den Probentransport auf dem Gelände eines Krankenhauses oder Klinikums!

Die zusammengesetzte Transportverpackung nach CEN EN 829 besteht aus

- einem oder mehreren flüssigkeitsdichten Probengefäßen
- aufsaugendem Material, das ausreichen muß, die gesamte aus den Probengefäßen austretende Flüssigkeit aufzunehmen
- einem Schutzgefäß, das ebenfalls flüssigkeitsdicht sein und mechanischen Belastungen, Temperaturschwankungen und einem Abfall des Außendrucks standhalten muß
- einer kistenförmigen Verpackung oder Versandhülle, die den üblichen Transportbelastungen standhalten muß.

Die kistenförmige Außenverpackung oder Versandhülle muß mit dem graphischen Symbol nach Abb. 2.2 in den Maßen 62 mm × 44 mm gekennzeichnet sein. Begleitpapiere sollten nicht in das Schutzgefäß, sondern in die Versandhülle gegeben werden.



Abb. 2.2 Graphisches Symbol zur Kennzeichnung menschlichen Untersuchungsgutes.

A: Zur Abtötung von vegetativen bakteriellen Keimen einschließlich Mykobakterien sowie von Pilzen einschließlich ihrer Sporen geeignet.
B: Zur Inaktivierung von Viren geeignet.
C: Zur Abtötung von Sporen des Erregers des Milzbrandes geeignet.
D: Zur Abtötung von Sporen der Erreger von Gasödem und Wundstarrkrampf geeignet (hierzu müssen Sterilisationsverfahren angewendet werden).

Die **Liste der DGHM** (Liste der nach den Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel geprüften und von der **D**eutschen **G**esellschaft für **H**ygiene und **M**ikrobiologie als wirksam befundenen Desinfektionsverfahren, mhp-Verlag/Wiesbaden) ist eine Liste über Desinfektionsmittelpräparate unter Angabe von Wirksubstanz, Hersteller, Einsatzbereich, Konzentrations- und Einwirkungszeit. Sie dient der Auswahl für die *routinemäßige* und *prophylaktische* Desinfektion, insbesondere zur Verhütung von

infektionsverfahren und die Desinfektion in vollautomatischen *Reinigungs-* und *Desinfektionsmaschinen*.
Ausglühen und **Abflammen** finden praktisch als nichtstandardisierbare Verfahren ausschließlich in Laboratorien Anwendung.
Das RKI gibt für das **Kochen mit Wasser** bei einer Mindesteinwirkungszeit von 3 min den Wirkungsbereich AB, bei 15 min ABC an.
Das **Dampfdesinfektionsverfahren** kommt bei gegenüber Feuchtigkeit empfindlichen Materialien – z.B. Bettdecken, Bettkissen und Matratzen – zur Anwendung. Verfahren der Wahl ist das sogenannte VDV-Verfahren (fraktioniertes Vakuumverfahren); für Wirkungsbereich AB außer Virushepatitis werden 75 °C/20 min angewendet, für Wirkungsbereich ABC 105 °C/ 5 min.
Vollautomatische Reinigungs- und Desinfektionsautomaten arbeiten thermisch mit 93 °C und einer Einwirkungszeit von 10 min (Wirkungsbereich AB). Neuere Geräte verfügen zur

2

Anwendungsbereiche sind: Schleimhautdesinfektion, Hautdesinfektion.
In der Schwangerschaft, bei Neugeborenen und Säuglingen (transiente Hypothyreose) und Schilddrüsenerkrankungen (Hyperthyreose) sowie vor Untersuchungen und Therapien mit radioaktivem Jod sollen Jodpräparate nicht eingesetzt werden.

Biguanide. Chlorhexidin findet überwiegend als Zusatz zu anderen Desinfektionsmitteln (Remanenz) oder als Schleimhautdesinfektionsmittel Verwendung, weil es nur zu einer Keimzahlreduktion von 2 Logarithmusstufen führt.

Octenidinhydrochlorid (Octenisept®). Octenisept® ist eine kationenaktive Verbindung, die

überwiegend nur noch in Kombinationspräparaten mit anderen Desinfektionsmitteln.

Das Wirkungsspektrum umfaßt:
- Bakterien, einschließlich Tuberkelbakterien
- begrenzt Pilze
- Viren (nur behüllte)

Anwendungsgebiete sind: Desinfektion unkritischer Flächen, Desinfektion von Ausscheidungen.
Vorsicht ist bei der Anwendung in der Pädiatrie wegen möglicher Hyperbilirubinämien geboten. Nicht zuletzt deswegen sollten Flächen nach adäquater Einwirkungszeit sorgfältig mit Wasser abgespült werden und Gerätschaften wie Inkubatoren nicht mit Phenol desinfiziert werden.

Weitere Desinfektionsgruppen
Es gibt weitere Substanzen, die antimikrobielle Wirksamkeit besitzen, die aber bisher nicht oder nur begrenzt in den Bestand der Krankenhausdesinfektionsmittel übernommen wurden. Hierzu zählen Metalle, Ether, Aceton, Chloroform, NaOH/KOH, Säuren. Teils hat dies toxikologische Gründe (z.B. Quecksilber, Kaliumpermanganat), teils bestehen bisher zu wenig Studien und Erfahrungen mit diesen Mitteln, so daß vor ihrer breiten Anwendung Forschungsarbeit notwendig ist. Säuren sind oft materialaggressiv. Kalilauge (KOH) hat einen unsicheren keimabtötenden

Entweder wird aus einem Reinigungsgerät Desinfektionslösung aufgetragen oder es wird stets nur ein frischer Lappen in die Desinfektionsmittellösung eingetaucht und nach Auftragen auf einen bestimmten Bereich (z.B. ein Raum) durch einen frischen ersetzt. Dies dient der Verhinderung der Keimverschleppung über die kontaminierte Desinfektionslösung. Für jeden Pflegebereich (z.B. Patientenzimmer, reiner Pflegedienst, Sanitär) wird ein gesonderter Eimer mit Desinfektionslösung und Tuch, jeweils farblich gekennzeichnet, eingesetzt. Die genannten Verfahren sind der 2-Eimer-Methode überlegen. Die Wisch- und Reinigungsutensilien sind anschließend durch thermische Waschverfahren zu desinfizieren und trocken zu lagern. Überwiegend kommen die 4-Stunden- und 1-Stunden-Werte (letztere insbesondere in Risikobereichen, wie z.B. Intensiv, OP) der Desinfektionsmittel zur Anwendung.
Die **Instrumentendesinfektion** erfolgt bevorzugt thermisch in Desinfektionsmaschinen. Sollte eine manuelle Aufbereitung erforderlich sein, ist darauf zu achten, daß die Instrumente vollständig zerlegt sowie luftblasenfrei eingelegt werden und komplett mit Desinfektionslösung bedeckt bzw. gefüllt sind. Insbesondere bei starker Verschmutzung und englumigen Instrumenten (z.B. Endoskopen) ist zusätzlich eine

2

Vergleich zur Dampfsterilisation begrenzt und unzuverlässiger. Deshalb wird dieses Verfahren bevorzugt im Laborbereich eingesetzt. Darüber hinaus können nur Materialien sterilisiert werden, die eine Temperatur bis 200 °C tolerieren wie z.B. Metall, Porzellane, Glas, Pulver, Öle und Fette. Seitens des ROBERT-KOCH-Institutes wird folgende Empfehlung bei Betrieb von Heißluftsterilisatoren zu Einwirkzeiten in Abhängigkeit von der Temperatur gegeben:160 °C, 200 min Mindesteinwirkungszeit;180 °C, 30 min Mindesteinwirkungszeit.

Gassterilisation

Die Gassterilisation sollte nur zur Anwendung kommen, wenn eine thermische Sterilisation – beispielsweise bei thermolabilem Material – nicht möglich ist.

Sterilisation mit Ethylenoxid (EO). EO liegt bei Raumtemperatur als Gas vor. Es ist giftig, brennbar, explosiv, kanzerogen und teratogen. Nach Evakuierung der Kammer des EO-Sterilisators erfolgt die Einwirkung des EO-Gases bei 50–60 °C auf das Sterilisiergut bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40–90%.

Da kleinste Schmutz-, Eiweiß- oder Salzkristallumhüllungen den Sterilisationserfolg beeinträchtigen, muß das Sterilisiergut zuvor sorgfältig gereinigt und mit destilliertem Wasser gespült werden.

Lumina müssen freien Durchgang haben und dürfen nicht durch Wassertropfen blockiert werden. Instrumente müssen, soweit möglich, zerlegt sein. Das zu sterilisierende Material muß absolut sauber und trocken sein. Vor Entnahme des Sterilisiergutes aus der Kammer ist durch Desorptionsprogramme sicherzustellen, daß die technische Richtkonzentration für EO in der Luft aus Personalschutzgründen eingehalten wird. Darüber hinaus ist zu beachten, daß unterschiedliche Materialien verschiedene Auslüftungszeiten benötigen, weil auch beim Patienten EO durch direkten Kontakt mit dem sterilisierten Gut zu gesundheitlichen Schäden führen kann. Räume, in denen Sterilgut aus Gassterilisatoren entnommen wird, müssen einen mindestens achtfachen stündlichen Luftwechsel besitzen. Der Leiter der Sterilisationsabteilung benötigt einen Befähigungsschein, der in anerkannten Lehrgängen erworben werden kann.

Sterilisation mit Formaldehyd (FA). Die Formaldehydsterilisation wird bei 60–75 °C mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von 100% durchgeführt. Beim sogenannten Pendelverfahren wird vor der eigentlichen Einwirkungsphase ein fraktioniertes bzw. pulsierendes Vorvakuum aufgebaut, bei dem Kammerevakuierung und Einspeisung des Formaldehyd-Wasserdampfgemisches abwechseln. Hierdurch soll das Eindringen in poröses und englumiges Material erleichtert werden. Durch ein pulsierendes Nachvakuum wird die Desorption erreicht. Obgleich die FA-Sterilisation nicht in dem Maß durch Salze beeinflußt wird wie die EO-Sterilisation, ist eine gründliche Vorreinigung und Spülung sehr wichtig. Nachteilig ist das gegenüber EO geringere Penetrationsvermögen, vorteilig die geringere Gefährdung des Personals.

Niedrigtemperatur-Plasmasterilisation. Bei der Plasmasterilisation wird zunächst ein Hochvakuum in der Sterilisierkammer erzeugt, anschließend Wasserstoffperoxid injiziert, das in das zu sterilisierende Gut diffundiert. Durch Anlegung eines hochfrequenten elektromagnetischen Feldes wird die Bildung des sogenannten Plasmas (4. Aggregrationszustand) mit mikrobizid wirkenden Radikalen erzeugt. Die Sterilisation verläuft bei 37–44 °C über ca. 75 min. Vorteilig ist die Rückstandsfreiheit von toxischen Substanzen, es bleiben nur Sauerstoff und Wasser übrig. Nachteilig ist, daß Papier, Stoffe und Flüssigkeiten nicht sterilisiert werden können. Für einen festgelegten Indikationsbereich stellt die Plasmasterilisation eine interessante Alternative zum EO- oder FA-Sterilisationsverfahren dar. Wie bei allen Sterilisationsverfahren ist auch hier eine vorhergehende gründliche Reinigung und Trocknung erforderlich.

Das bisher einzige kommerziell erhältliche Gerät Sterrad® 100 der Firma JOHNSON & JOHNSON wurde 1993 in den USA durch die Food and Drug Administration zugelassen. Leistungsgrenzen bei Instrumenten mit längeren inneren Hohlräumen scheinen durch sogenannte Diffusionsverstärker und durch die Entwicklung einer neuen Geräteversion (Sterrad® 100 S) mit Verdoppelung der Wirkstoffmenge und verbesserter Diffusion mittels Druckerhöhung zu bewältigen zu sein. Als Verpackung kommt nur papierfreie spezielle Kunststoffolie in Betracht, weil Zellulose H_2O_2 absorbiert und somit seinen Zutritt zum Sterilgut behindert. Es sind spezielle Polypropylen- oder Edelstahlbioindikatoren mit *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953 für die Überwachung erforderlich.

Lagerung von Sterilgut

Sterilgut soll bevorzugt *geschützt* (in Schränken, Schubladen etc.) gelagert werden, um mechani-

sche Belastungen sowie eine Kontamination der Verpackung durch Staub oder Feuchtigkeit zu vermeiden. In der Regel erfolgt eine Zweifach-Verpackung in Klarsichtsterilisier-Verpackungsmaterial, speziellem Sterilisierpapier oder eine Verpackung in Metallcontainern mit Vliespapier und speziellen dampfdurchlässigen Filtereinsätzen bei der Dampfsterilisation. Bei der Heißluftsterilisation kann eine Verpackung in Aluminiumfolie (dreifach) oder Laborkartuschen, bei der Gassterilisation in speziellem Klarsichtsterilisier-Verpackungsmaterial stattfinden. Die Lagerung kann nach DIN 58953 in der Zweifachverpackung geschützt über 6 Monate erfolgen; bei ungeschützter Lagerung sollte das Sterilgut alsbaldig verbraucht werden (Lagerung in der Zweifachverpackung 6 Wochen, Einfachverpackung 24 h). Industriell gefertigte Produkte haben in wiederverschließbaren Sterilgut-Lagerverpackungen vom Hersteller angegebene Verfallsdaten.

2.2.5 Überprüfung der Desinfektion und Sterilisation

Die regelmäßige Kontrolle von Desinfektions- bzw. Sterilisationsgeräten ist eine wichtige Maßnahme im Sinne der Qualitätssicherung. Es ist zu unterscheiden zwischen dem **biologischen** (sogenannte Bioindikatoren), **chemischen** und **physikalischen Monitoring** (z.B. Zeit, Temperatur, Druck). **Bioindikatoren** sind spezielle Aufbereitungen von Testorganismen, die den Desinfektions- bzw. Sterilisationsverfahren unterzogen werden und die bei einwandfreier Funktion eine bestimmte Keimzahlreduktion erfahren bzw. nicht mehr anzüchtbar sind. Sie dienen dem Nachweis der korrekten Funktion von Desinfektions- und Sterilisationsgeräten unter Praxisbedingungen.

Der Überprüfung von Desinfektionsmaschinen (z.B. Instrumenten-, Anästhesie-, Steckbecken- und Waschmaschinen) dient als Bioindikator *Enterococcus faecium* ATCC 6057 (siehe DIN Norm 58949). Autoklaven werden nach DIN überprüft mit *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, Heißluftsterilisatoren mit *B. subtilis* ATCC 9372 nach DIN 58947, Formaldehydsterilisatoren mit *B. stearothermophilus* ATCC 7953 und Ethylenoxidsterilisatoren mittels *B. subtilis* ATCC 9372. Weitere Angaben zur Validierung der Sterilisation finden sich in den europäischen DIN EN-Normen. Die Überprüfung sollte in der Regel routinemäßig mindestens ½-jährlich erfolgen bzw. abhängig von der Chargen-Zahl. Die CDC empfehlen die Überprüfung mittels Bioindikatoren bei Sterilisatoren sogar wöchentlich und bei Implantaten je Charge.

Darüber hinaus sollten sogenannte **Chemoindikatoren** bei jeder Charge mitgeführt werden, die anzeigen, ob die Charge einer Sterilisation unterzogen wurde (sogenannte Behandlungsindikatoren) und Chemoindikatoren, die aufgrund des Farbumschlages eine chargenbezogene orientierende Aussage zur Effektivität der Sterilisation ermöglichen. Für jedes Sterilisiergerät besteht eine chargenbezogene Dokumentationspflicht über Chemo-, Bioindikatoren sowie physikalische Parameter. Außerdem ist arbeitstäglich vor Beginn der Sterilisation bei Autoklaven eine sogenannte *Leercharge* zur Überprüfung des ordnungsgemäßen Programmablaufes zu fahren, ein *Vakuumtest* sowie ein *Bowie-Dick-Test* (Dampfdurchdringungs- oder Entlüftungstest mittels spezieller Indikatorbögen) durchzuführen. Selbstverständlich ist die korrekte Beschriftung des Sterilgutes mit Sterilisations- und Verfallsdatum, Gerätebezeichnung, Chargen-Nummer und Inhaltsangabe. Das System der subtilen engmaschigen Überprüfung, insbesondere bei der Sterilisation, gewährleistet, daß nahezu jeder Sterilisationsfehler rechtzeitig erkannt wird und Chargen nicht ausgeliefert oder zurückgezogen werden können.

2.2.6 Desinfektion und Sterilisation beim Creutzfeldt-Jakob(CJ)-Erreger

Prionen (infektiöse Eiweiße) als Erreger der CJ-Erkrankung, zeichnen sich durch eine besondere Resistenz gegen Desinfektions- und Sterilisationsmaßnahmen aus. Infolgedessen sollten bevorzugt Einmalmaterialien bei Patienten mit Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung – insbesondere bei Eingriffen an Gehirn, Rückenmark oder Auge – verwendet werden. Das RKI gab nachfolgende Empfehlungen. Zur effektiven Sterilisation ist Autoklavieren bei 134 °C über 1 h erforderlich. Zuvor ist bei Instrumenten nach Eingriffen außerhalb von ZNS und Auge eine Desinfektion mit 1–2 M NaOH oder 2,5–5% Natriumhypochlorit für 1 h mit mechanischer Zwischenreinigung und anschließendem Aufbereitungszyklus in einem Desinfektions- und Reinigungsapparat bei 93 °C durchzuführen. Nach neurochirurgischen Eingriffen ist vor der Dampfsterilisation eine Desinfektion mit 1–2 M NaOH oder 2,5–5% Natriumhypochlorit über 24 h durchzuführen.

Oberflächen, die mit Liquor kontaminiert wurden, sollten mit 2,5% Natriumhypochlorit oder

1–2 M NaOH 1 h desinfiziert werden. Abfälle, die mit erregerhaltigem Material kontaminiert sein können, sind als Abfall der Gruppe C (sog. infektiöser Abfall) durch Verbrennen zu entsorgen. Schnitt- und Stichverletzungen bei der Liquor-Entnahme oder bei der Probenentnahme und Weiterverarbeitung von Material außerhalb von ZNS/Auge sollten nach ausgiebigem Spülen mit Wasser mittels 2,5% Natriumhypochlorit für 5 min desinfiziert und anschließend erneut mit Wasser gewaschen werden. Nach Verletzung an Instrumenten/Material, die mit Hirn, Rückenmark oder Augengewebe in Berührung gekommen sind, sollte nach intensivem Spülen mit Wasser die Wunde mit 2,5% Natriumhypochlorit für 5 min desinfiziert, danach exzidiert und chirurgisch versorgt werden. Nach Spritzern von potentiell mit CREUTZFELDT-JAKOB-Erregern kontaminiertem Material ins Auge oder auf Schleimhäute sollte unverzüglich ausgiebig mit Wasser gespült werden. Nach Kontamination der unverletzten Haut mit Geweben hoher Infektiosität sollte eine Desinfektion mit 1 M NaOH bzw. 2,5% Natriumhypochlorit-Lösung für 5 min mit nachfolgendem Abwaschen mit Wasser erfolgen. Ansonsten genügt das gründliche Abwaschen mit Seife. Die Natriumhypochlorit-Lösung ist max. 4 Wochen in einer geschlossenen Plastikflasche aufzubewahren.

2.2.7 Schlußbemerkung

Grundsätzlich gelten Blut/Sekrete von allen Patienten als potentiell infektiös, so daß alle benutzten Instrumente/Gerätschaften aus Personal- wie Patientenschutzgründen vorsichtig und sorgfältig gehandhabt und wiederaufbereitet bzw. entsorgt werden sollen. Desinfektions- und Sterilisationsmaßnahmen können bei

Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für den Lebensmittelbereich. Schlüter'sche GmbH, Hannover 2/1999 und 10/2000.

DETTENKOFER, M. und F. DASCHNER: Umweltschonende Sterilisation und Desinfektion In: Praktische Krankenhaushygiene und Umweltschutz (Hrsg.: F. DASCHNER), Springer, Berlin 1997.

Liste der vom ROBERT-KOCH-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren. Bundesgesundheitsbl. 9, 1997.

Richtlinie für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention des ROBERT-KOCH-Institutes, Fischer, Stuttgart 2000.

RUTALA, W. A.: Disinfection, sterilisation and waste disposal. In: Prevention and control of nosocomial infections. (Ed. R. P. WENZEL), Williams & Wilkins, Baltimore 1997.

2.3 Mikrobiologische und serologische Untersuchungsverfahren

KLAUS PETER SCHAAL, JOACHIM KÜHN

Die mikrobiologische Diagnostik, d.h. die Diagnostik von Infektionskrankheiten mittels mikrobiologischer, serologischer und molekularbiologischer Untersuchungsverfahren, ist ihrem Wesen nach immer ätiologisch ausgerichtet; sie versucht also, die **Ursache** einzelner Infektionsprozesse durch den Nachweis der jeweils verantwortlichen Erregerart(en) individuell aufzuklären. Dazu bedient sie sich traditionell mikroskopischer und kultureller Techniken, denen Proben des entzündeten oder nekrotischen Gewebes oder Körperflüssigkeiten, Ex- und Sekrete unterworfen werden und mit denen die Anwesenheit pathogener Mikroorganismen am unmittelbarsten belegt oder ausgeschlossen wer-

2

mikroskopischen Diagnosestellung oder von den modernen Verfahren zum Antigen- oder Nukleinsäure-Nachweis abgesehen, frühestens nach ein bis zwei Tagen, zuweilen aber auch erst nach einer oder mehreren Wochen erbracht werden kann. Sogenannte Schnellverfahren, auch solche auf der Basis von Nukleinsäure-Amplifikations-Techniken (NAT), auf deren Entwicklung in letzter Zeit vermehrt Gewicht gelegt wurde, haben daran bisher grundsätzlich wenig geändert, da sie in der Regel nur einen sehr speziellen Einsatzbereich haben und die kulturellen Verfahren in vielen Fällen eher ergänzen als ersetzen können.

Zur eigentlichen Untersuchungsdauer addieren sich häufig noch die Transportzeiten für die Proben und die Zeit für die Übermittlung des schriftlichen Befundes, so daß der behandelnde Arzt gerade bei akuten oder gar lebensbedrohenden Infektionen das mikrobiologische Untersuchungsergebnis selbst bei Verwendung von Schnellverfahren für die Planung der erforderlichen Sofortbehandlung oft nicht abwarten kann. Wegen dieser Problematik sollte er aber nicht auf die mikrobiologische Untersuchung verzichten, sondern sie unbedingt zur Bestätigung seiner klinischen Verdachtsdiagnose und zur oft notwendigen, ja lebensrettenden Korrektur der Primärtherapie einsetzen. Außerdem läßt sich durch organisatorische Maßnahmen wie Botentransport und telefonische, Fax- oder E-Mail-Übermittlung vorläufiger Befunde das infor-

hörigen EDV-Datensammlungen und Auswertungsprogramme dies nahezulegen scheinen.

Allgemeine mikrobiologische Arbeitsbedingungen

Alle mikrobiologischen Untersuchungsgänge erfordern Arbeitsbedingungen, welche die Gefährdung des im Laboratorium tätigen Personals so gering wie möglich halten, Kontaminationen von klinischem Material und Kulturmedien vermeiden und beste Möglichkeiten bieten, vorhandene Erreger auch tatsächlich nachzuweisen. Dazu wurden aus der Erfahrung heraus und gestützt durch den Erkenntnisfortschritt Instrumente, Methoden und Verhaltensweisen entwickelt, die in ihrer Anwendung und Zielsetzung dem strengen Ritual der Antiseptik in der Chirurgie ähnlich sind.

Wichtigstes Instrument in der Bakteriologie ist seit Jahrzehnten die **Impfnadel** oder **Impföse** aus Platindraht (Abb. 2.4), die in einem geeigneten Halter (z.B. nach KOLLE) befestigt ist. Vor und nach jedem Gebrauch wird sie in der nichtleuchtenden, also besonders heißen Bunsenbrennerflamme zur Sterilisation ausgeglüht. Mit einer solchen sterilen Öse werden Untersuchungsmaterialien auf Objektträger und verschiedene Kulturmedien übertragen oder be-



dern, die eine bis auf einen Spalt zur Einführung der Hände abgeschlossene Kabine ist, welche mit keimfrei gefilterter Luft durchströmt wird. Bei entsprechender Führung der turbulenzarmen Luft sichert ein solches System auch das Personal vor Infektionen durch infektiöse Aerosole („*Sicherheitswerkbank*").
Eine weitere Reduktion der Infektions- und Kontaminationsgefahr wird durch eine häufige desinfizierende Reinigung der Arbeitstische und durch die Desinfektion und anschließende Sterilisation der Werkzeuge (z.B. Pipetten, Spritzen, Reagenzgläser) unmittelbar nach jedem Gebrauch erreicht.

Mikroskopische Untersuchungsverfahren

Mikroskopische Untersuchungsverfahren können zur Auffindung, Zählung, morphologischen Beurteilung und (seltener) Identifizierung von Mikroorganismen eingesetzt werden. In der medizinischen Bakteriologie dienen sie hauptsächlich der vorläufigen Orientierung über den Bakteriengehalt klinischer Materialproben und der Prüfung der Zellformen, Beweglichkeit, Färbeeigenschaften und Einheitlichkeit von Kulturen; eine mikroskopische Artdiagnose bakterieller Krankheitserreger ist nur in Verbindung mit serologischen Methoden (Immunfluoreszenztechnik) zuverlässig möglich. Protozoen und viele Pilze lassen sich demgegenüber oft allein anhand ihres mikroskopischen Erscheinungsbildes identifizieren; das Mikroskop besitzt daher für die Untersuchung dieser Kleinstlebewesen einen deutlich höheren Stellenwert als für die bak-

pie näher eingegangen, weil diese Verfahren auch außerhalb des mikrobiologischen Laboratoriums in Klinik und Praxis sinnvoll einsetzbar sind:

Nativpräparate

Bei mittlerer bis starker Vergrößerung, ausreichender Abblendung des Hellfeldes oder Verwendung der Dunkelfeld- oder Phasenkontrasttechnik lassen sich Bakterien und andere, wenigstens gleich große Mikroorganismen nativ, das heißt ohne vorausgehende abtötende und eventuell formverändernde Fixierung und Färbung, unter dem Lichtmikroskop sichtbar machen. Da aus optischen und physiologischen Gründen meist wäßrige Aufschwemmungen untersucht werden, kann man in solchen Nativpräparaten besonders einfach den Nachweis der Beweglichkeit führen.

Deckglaspräparate. Ein Tropfen bewachsener Kulturflüssigkeit oder bakterienhaltiger Ex- und Sekrete wird mit der sterilen Öse unmittelbar auf einen sauberen Objektträger aufgebracht, möglichst ohne Luftblaseneinschlüsse mit einem Deckglas bedeckt und mit einem Objektiv ausreichender Auflösung (mit oder ohne Öl- oder Wasserimmersion) mikroskopiert. Dieses Verfahren wird z.B. zum Nachweis lebender Syphilisspirochäten im Reizserum, von Leptospiren in Kulturflüssigkeiten oder von Rückfallfiebererregern (Borrelien) im Zitratblut unter Zuhilfenahme des Dunkelfeldmikroskopes eingesetzt.
Deckglaspräparate mit Vitalfärbung. Morphologisch differenziertere Mikroorganismen wie Aktinomyzeten, Pilze oder Protozoen lassen ihre verschiedenen diagnostisch wichtigen Strukturen besser erkennen, wenn man der Suspensionsflüssigkeit einen Farbstoff

man ein Deckglas, einen Hohlschliffobjektträger und etwas Vaseline oder dickflüssiges Paraffinöl, welche ringförmig um die Aushöhlung des Objektträgers gestrichen werden. Ein Tropfen der zu untersuchenden mikrobenhaltigen Suspension wird in die Mitte des Deckglases gegeben und der Hohlschliffobjektträger wird so daraufgesetzt, daß der Tropfen in der Mitte der Vertiefung liegt und das Deckglas durch die Vaseline luftdicht fixiert wird. Das Präparat kann nun ohne Mühe umgedreht und durch das Deckglas, von der Rückseite des Tropfens, mikroskopiert werden. Die Beweglichkeit vorhandener Mikroorganismen läßt sich vor allem im Randbereich des Tropfens zuverlässig beurteilen (*cave:* Verwechslung mit BROWNscher Molekularbewegung!).

Negativdarstellung (Tuschepräparat). Zur exakteren Darstellung der äußeren Konturen mikrobieller Zellen und zum Nachweis von Kapseln empfiehlt sich das Tuschepräparat nach BURRI: Die mit schwarzer Tusche vermischte Mikrobensuspension (Untersuchungsmaterial, Bouillonkulturen oder Kolonieaufschwemmungen) wird wie ein Blutausstrich auf dem Objektträger ausgezogen, luftgetrocknet und gegebenenfalls schonend fixiert. Sodann wird das Präparat ohne Deckglas mit Ölimmersion mikroskopiert. Wenn man den Ausstrich vorher mit einem der in der Mikrobiologie üblichen Farbstoffe (s.u.), die nur vom Zellkörper, nicht aber von den Kapselsubstanzen aufgenommen werden, anfärbt, kann man mikrobielle Schleimkapseln als farblose Aussparungen im Tuschefilm, die den Zelleib umgeben, besonders einfach und deutlich erkennen.

Gefärbte Präparate

Die Färbung mikroskopischer Präparate dient zur besseren Sichtbarmachung und Differenzierung von Mikroorganismen, aber auch zur gezielten Darstellung bestimmter Zelleinschlüsse und Organellen.

Vorbereitung der Präparate. Das zu untersuchende Material wird in einem vorher mit Fettstift (an der Unterseite) oder Diamantschreiber (an der Oberseite) markierten Bezirk mit Öse oder Tupfer dünn und gleichmäßig auf den Objektträger aufgetragen. Nach vollständiger Lufttrocknung wird es fixiert, was für alle Routinefärbungen durch dreimaliges langsames Durchziehen durch die leuchtende Bunsenbrennerflamme (mit der Schichtseite nach oben) geschieht. Diese Hitzefixierung ist notwendig, damit die Bakterien bei den nachfolgenden Färbe- und Waschvorgängen am Objektträger haften bleiben.

Einfachfärbungen. Bei den Einfachfärbungen wird in einem Arbeitsgang eine Farbstofflösung, die nur eine färbende Komponente enthält, auf den Objektträger aufgebracht; die Mikroorganismen nehmen dabei den Farbton der verwendeten Lösung an. Solche Einfachfärbungen erlauben eine bessere Unterscheidung der Mikroorganismen von unbelebtem organischen Material und eine gute Beurteilung ihrer Gestalt und Größe. Am gebräuchlichsten ist die LOEFFLERsche Färbung mit *alkalischem Methylenblau*; vergleichbare Ergebnisse kann man aber auch mit anderen basischen Farbstoffen erzielen. Zur Durchführung der Färbung wird das fixierte Präparat mit der Schichtseite nach oben auf eine Färbebank gelegt und reichlich mit Farblösung überdeckt. Alternativ kann es in eine Färbeküvette, welche die entsprechende Farblösung enthält, eingetaucht werden. Nach einer Einwirkungszeit von etwa 1 min wird der Objektträger mit Leitungswasser abgespült und unter leichtem Andrücken zwischen Fließpapier getrocknet. Anschließend wird das Präparat ohne Deckglas mit Ölimmersion mikroskopiert.

Differentialfärbungen. Differentialfärbungen arbeiten mit mindestens zwei verschiedenen Farbstoffen, deren Lösungen nacheinander oder gemischt verwendet werden. Häufig liegen zwischen den einzelnen Färbeschritten Waschvorgänge, welche die zuerst applizierte Farbe aus manchen Mikroorganismen oder Strukturen wieder herauslösen, so daß sich diese am Ende nur im Farbton der zweiten Farblösung (Gegenfärbung) darstellen, während die übrigen Mikroben oder Mikrobenbestandteile eine Färbung zeigen, welche der ersten, meist stärkeren Komponente oder einer Mischung aus beiden Farbstoffen entspricht. Die sich auf diesem Wege ergebenden unterschiedlichen Reaktionsausfälle können zur Differenzierung und Identifizierung von Bakterien und anderen Mikroorganismen herangezogen werden.

Differentialfärbung nach GRAM. Im Jahre 1884 wurde von dem dänischen Internisten, Pathologen und Pharmakologen HANS CHRISTIAN JOACHIM GRAM (1853–1938) eine Färbemethode angegeben, die er zur besseren Sichtbarmachung von Bakterien in Gewebeschnitten entwickelt hatte. Erst später stellte sich heraus, daß dieses Verfahren eine weit über seinen ursprünglichen Zweck hinausgehende praktische und taxonomische Bedeutung besitzt. Es erlaubt nämlich, das Bakterienreich einfach und schnell in zwei große Gruppen zu unterteilen, deren Mitglieder sich hinsichtlich ihres Zellwandaufbaus (s. Kap. 3.1.2) und einiger anderer Eigenschaften grundlegend unterscheiden.

Zur Durchführung einer GRAM-Färbung, die seit langem zu einem der wichtigsten Verfahren

in der diagnostischen Mikrobiologie geworden ist, gehören die folgenden Arbeitsgänge: Hitzefixierte Präparate werden zunächst auf der Färbebank für 1 bis 2 min mit einer frisch filtrierten, wäßrig-alkoholischen Lösung (eventuell mit Zusatz von Ammoniumoxalat, Anilinöl und/oder Phenol) einer der basischen *Pararosanilinfarben* (Gentianaviolett, Methylviolett, Kristallviolett, Hexamethylviolett) bedeckt. Anschließend wird die Farbe mit LUGOLscher Lösung (Jodjodkalilösung) abgespült, und das Präparat bleibt zur Beizung für weitere 1 bis 2 min mit dieser Lösung überflutet. Nach Abkippen der Beize entfärbt man mit mehreren Portionen 95%igen Äthylalkohols (oder mit Azeton oder einer Alkohol-Azeton-Mischung, die rascher entfärbend wirken), bis keine sichtbaren Farbwolken mehr

stellen sich unter dem Mikroskop blau-schwarz bis dunkel-violett dar (Abb. 2.5; Abb. 2.6–2.11, Farbtafeln). Bakterien, deren Zellwand demgegenüber nur über eine dünne, einzelne Mureinschicht verfügt, geben den violetten Farbstoff unter Alkohol- bzw. Azetoneinwirkung schnell und vollständig ab und nehmen die rosa bis rote Farbe der Gegenfärbung an. Diese Bakterien nennt man **gram-negativ** (Abb. 2.5; Abb. 2.12–2.14, Farbtafeln).

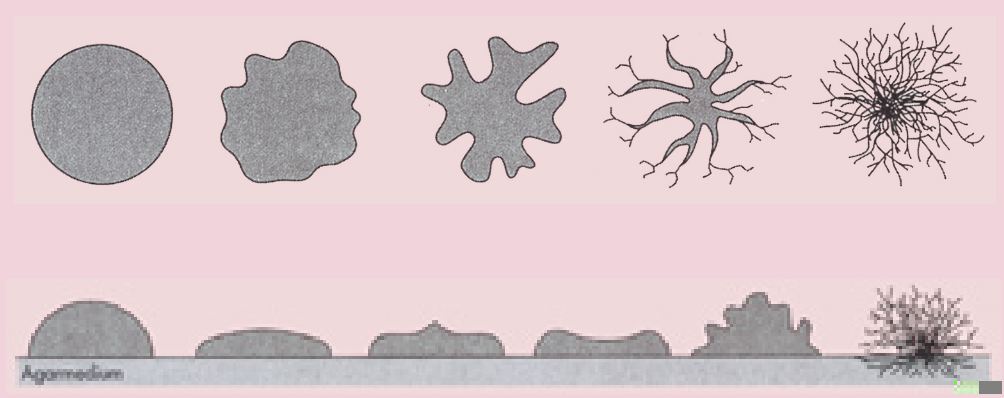
Der Ausfall der GRAM-Färbung wird allerdings nicht nur von der chemischen Zusammensetzung und Struktur der Zellwände der untersuchten Bakterien bestimmt, sondern er wird zusätzlich auch durch das Alter der Kulturen, den Vitalitätszustand der Organismen, die Schichtdicke des Präparates und die Übung und Erfahrung des Untersuchers beeinflußt. Unter ungünstigen biologischen und/oder technischen Be-

Färbeschritt	Aussehen der Bakterien

2

2

2



besteht aus hochmolekularen Galaktose-Schwefelsäure-Estern und ist fast geschmack-, geruch- und farblos und nach Reinigung atoxisch für Mikroorganismen. Er ist unlöslich in kaltem Wasser, löst sich jedoch in kochendem Wasser und erstarrt noch in 0,5–1,0%iger Lösung zu einer Gallerte, wenn die Temperatur unter 45–48 °C absinkt. Einmal verfestigt läßt sich das Agargel erst bei Temperaturen zwischen 80 und 100 °C wieder verflüssigen. Außerdem wird die Substanz von bakteriellen Enzymen nur ausnahmsweise angegriffen. Damit besitzt sie Eigenschaften, die sie zu einem bis heute unersetzbaren Hilfsmittel für die Mikrobiologie werden ließen. Einige besonders anspruchsvolle Krankheitserreger benötigen für ihre optimale Vermehrung zusätzlich noch **Blut** (hämophile Bakterien) oder **Serum** im Nährmedium. In Agarnährböden dient die Zugabe von defibriniertem Schafblut (seltener Kaninchen-, Pferde-, Menschenblut) vor dem Erstarren oft nicht nur der Wachstumsförderung, sondern auch der Beurteilung des *Hämolyseverhaltens* (s.u.) bestimmter Bakterienarten. Komplexe natürliche Proteingemische (Serum, Hühnereier) können neben ihrer Funktion als Nährstofflieferanten außerdem zur Verfestigung bestimmter Nährmedien verwendet werden, da sie bei Erhitzung gerinnen und dann ähnlich wie Geliermittel wirken (z.B. LOEFFLER-Serumnährboden zur Diphtheriediagnostik; LÖWENSTEIN-JENSEN-Eiernährboden für Mykobakterien).

Einfache bakteriologische Nährmedien. Ein einfaches flüssiges Nährmedium und Grundbestandteil vieler Spezialsubstrate ist die *Nährbouillon* nach ROBERT KOCH. Sie enthält Fleischwasser (500 g fettfreies, gehacktes Rindfleisch in 1 l Wasser kochen und nach dem Erkalten durch Papierfilter filtrieren) oder Fleischextrakt, 0,5% Kochsalz und 1% Pepton.
Durch Zusatz von 12% Gelatine oder 1–3% Agar erhält man die einfachsten festen Nährböden (*Nährgelatine* und *Nähragar* nach KOCH). Nährmedien, die gelierende Substanzen enthalten, werden nach dem Autoklavieren auf etwa 50 °C abgekühlt und dann in sterile Kulturgefäße abgefüllt. Dazu dienen überwiegend Petrischalen und Reagenzgläser. In *Petrischalen* läßt man das Medium in etwa 5–7 mm hoher, gleichmäßig dicker Schicht erstarren (**„Nährbodenplatte“**; früher wurden anstelle der Kulturschalen Glasplatten verwendet, der Name hat sich erhalten); Reagenzgläser bleiben nach Einfüllen des noch flüssigen Nährbodens senkrecht stehen (für **Stich-Kulturen)** oder werden bis zum Gelieren leicht (für **Stich-Schräg-Kulturen)** oder stark geneigt (für **Schräg-Kulturen)** gehalten.

Kultivierung in flüssigen Nährmedien. Flüssige Nährmedien dienen vor allem der *Anreicherung* von Mikroorganismen, die im Untersuchungsmaterial in geringer Zahl oder in vorgeschädigtem Zustand vorhanden sind. Reinkulturen lassen sich allein über Nährbrühen nicht oder nur unsicher erreichen. Dies ist der Grund für den großen Fortschritt, welchen die Einführung der Geliermittel durch ROBERT KOCH im Vergleich zu den Arbeitsmethoden von LOUIS PASTEUR mit sich brachte. Liegen Reinkulturen bereits vor, kann die Bouillon zur Prüfung physiologischer Leistungen oder der Antibiotikaempfindlichkeit sowie zur Beurteilung des Wachstumsverhaltens herangezogen werden.

Folgende Wuchsformen werden bei Bakterien, die in flüssigem Milieu kultiviert werden, beobachtet:

1. Vermehrung mit diffuser Trübung der Brühe (z.B. bei den meist beweglichen Mitgliedern der Familie *Enterobacteriaceae)*
2. Bildung eines Oberflächenhäutchens (Kahmhaut) durch obligat aerobe Bakterien wie Pseudomonaden, Mykobakterien oder Nocardien
3. Wachstum in Form eines körnigen Bodensatzes ohne nennenswerte Trübung der Bouillon bei Arten mit fermentativem Stoffwechseltyp, die bei der Vermehrung größere, mehr oder weniger fest zusammenhängende Zellaggregate ausbilden (z.B. Streptokokken, anaerobe Aktinomyzeten).

In flüssigen Kulturen können außerdem charakteristische Merkmale wie Gasbildung oder Produktion wasserlöslicher Pigmente besonders gut geprüft werden.
Um Kontaminationen aus der Luft zu vermeiden, werden Nährbrühen unter Schräghaltung des Kulturgefäßes beimpft, und dessen oberer Rand wird vor dem Aufsetzen des Verschlusses und dem Aufrichten in der Bunsenbrennerflamme abgeflammt. Zur Inokulation können Platinösen oder sterile Pipetten verwendet werden.

Kultivierung auf festen Nährböden. Wie bereits erwähnt, dienen feste Universalnährböden an erster Stelle zur Herstellung und Überprüfung von Reinkulturen. Dabei ist die Morphologie der entstehenden Kolonien ein wichtiges Hilfsmittel (s. Abb. 2.6a–l). Diese läßt sich am einfachsten bei Lupenbetrachtung (6 x) beurteilen und erlaubt dem Erfahrenen unter Berücksichtigung weiterer Eigenschaften wie Vorhandensein diffusibler oder koloniieständiger Pigmente, Hämolyseverhalten, Konsistenz und Größe der Kolonien eine rasche, vorläufige Einordnung der gewachsenen Mikroben, ihre gezielte Abimpfung sowie den ökonomischen Einsatz der erforderlichen Differenzierungsreaktionen.
Um unterschiedliche Kolonieformen in der Oberflächenkultur sicher erkennen zu können, müssen mikrobenreiche Materialien allerdings so aufgeimpft werden, daß sie einzeln stehende

Kolonien entwickeln können. Unter Routinebedingungen bedient man sich dazu des sogenannten **fraktionierten** (Verdünnungs-) oder **Drei-Ösen-Ausstrichs** (Abb. 2.19). Dieser verteilt das Inokulum in drei Arbeitsschritten so auf der Agarplatte, daß selbst Untersuchungsstoffe hoher Mikrobendichte ausreichend ausgedünnt werden, um Einzelkolonien entstehen zu lassen.

Spezialnährmedien. Die meisten Nährböden werden heute auch kommerziell hergestellt (Fertignährböden), oder ihre jeweiligen Ingredienzien sind fertig gemischt in Trockenform im Handel erhältlich. Hinsichtlich der Einzelheiten wird auf die Broschüren der in Frage kommenden Firmen wie z.B. Becton Dickinson, bioMérieux, Biotest, Merck, Oxoid verwiesen.

Die bisher besprochenen Universalmedien ermöglichen einer Vielzahl verschiedener Mikroorganismen ungehinderte Vermehrung. Sie sind deshalb weniger geeignet, aus Materialien, die gleichzeitig mehrere unterschiedliche Mikrobenarten enthalten (z.B. Sputum-, Stuhlproben), bestimmte wichtige Spezies (z.B. Krankheitserreger) gezielt nachzuweisen, insbesondere wenn letztere nur in geringer Menge vorhanden sind. Für diesen Zweck benötigt man vielmehr Spezialnährmedien, die das Wachstum unerwünschter Mikroben unterdrücken *(Selektivmedien)*, die Vermehrung der gesuchten Arten überproportional fördern *(Elektivmedien)* oder biologische Unterschiede innerhalb der wachsenden Mischflora erkennbar machen *(Differentialmedien)*.

Anreicherungsmedien (Elektivmedien). Werden mehrere Mikrobenarten gleichzeitig in eine Nährbrühe eingeimpft, kann es zu einem Wettstreit um vorhandene Nährstoffe und zu gegenseitiger Behinderung durch anfallende Stoffwechselschlacken kommen. Dabei werden langsam wachsende oder zahlenmäßig unterlegene Spezies häufig überwuchert und entziehen sich so dem Nachweis. Durch Zugabe bestimmter selektiver Hemmstoffe oder durch Veränderung des pH-Wertes und der Kulturbedingungen kann man jedoch die an sich benachteiligten Mikroorganismen so begünstigen, daß sie sich gegen ihre Konkurrenten in der Nährlösung durchsetzen können und dadurch anreichern lassen.

Beispiele für Elektivmedien, die mit *chemischen Inhibitoren* arbeiten, sind die Tetrathionat-Brühe nach Müller und die Selenit-F-Brühe nach Leifson zur Anreicherung von Salmonellen aus Stuhlproben. Die Nährlösungen, die der Anzüchtung von Mykoplasmen dienen, werden

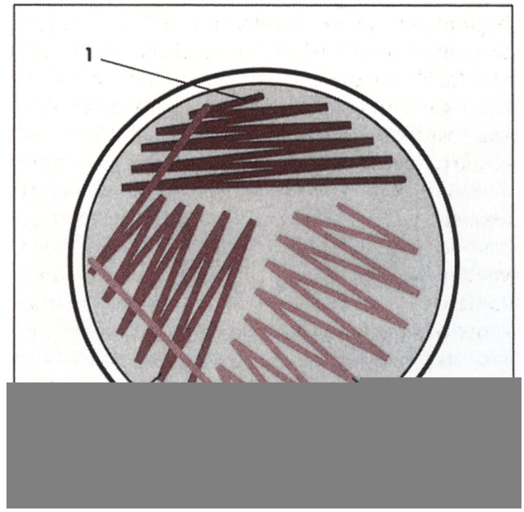


Abb. 2.19 Technik des Drei-Ösen-Austrichs:
1. Auftragen des Untersuchungsmaterials mit Öse oder Tupfer.
2. Verdünnungsausstrich mit frisch ausgeglühter Öse durch das Ende von 1.
3. Verdünnungsausstrich mit frisch ausgeglühter Öse durch das Ende von 2.

zur Unterdrückung anderer Bakterien mit Penicillin G (20 IE/ml) und/oder Thalliumazetat (0,0033%) versetzt. Weitere elektive Anreicherungsprinzipien sind vom Neutralpunkt stark abweichende *pH-Werte* (alkalisches Peptonwasser pH 9,5 für Vibrionen; saure Pilznährmedien pH 5,6), *extreme Bebrütungstemperaturen* (Kälteanreicherung bei +4 °C von Listerien; Anzucht thermophiler Bakterien bei 55 °C und mehr), *hoher Kochsalzgehalt* (z.B. für Staphylokokken 7,5%, Enterokokken 6,5% und halophile Vibrionen 7–10%) oder die Bereitstellung *ungewöhnlicher Nährstoffe* in *Mangelmedien* (z.B. Paraffin-Köder-Methode für Nocardien).

Selektivnährböden. Das oben genannte Prinzip der selektiven Unterdrückung unerwünschter Mikroben durch verschiedene Inhibitoren kann auch in festen Nährböden zur Anwendung kommen. Solche reinen Selektivmedien sind u.a. der Malzagar nach Grütz und der Sabouraud-Agar mit Chloramphenicol- und/oder Streptomycin-Zusatz, die beide durch saures Milieu und ihren Antibiotikagehalt eine Herauszüchtung von Pilzen aus bakteriell stark verunreinigten Untersuchungsproben gestatten, der Kanamycin-Vancomycin-Blutagar zum kulturellen Nachweis gramnegativer Anaerobier sowie das

LÖWENSTEIN-JENSEN- und das STONEBRINK-Medium, die durch ihren Malachitgrüngehalt das Wachstum anderer grampositiver Bakterien zugunsten von Mykobakterien unterdrücken.

Differentialnährböden. Mit Differential- oder Differenzierungsmedien werden bestimmte, diagnostisch relevante physiologische („biochemische") Leistungen von Mikroorganismen geprüft und durch primäre oder sekundäre Zugabe geeigneter Indikatorreagenzien sichtbar gemacht. Überwiegend dienen derartige Nährböden der Charakterisierung und Identifizierung bereits vorliegender Reinkulturen (s.u.); zuweilen werden sie aber auch zur Erkennung und Quantifizierung einzelner Komponenten einer natürlichen, ohne Selektionsmechanismen angezüchteten Mischflora herangezogen (z.B. Zählung von Gelatineverflüssigern oder H_2S-bildenden Clostridien in Trinkwasserproben).

Kombinierte Differential- und Selektivmedien. Kulturmedien, die gewisse Mikrobengruppen selektiv anwachsen lassen und gleichzeitig innerhalb der gewachsenen Arten Unterscheidungen erlauben, haben für die medizinische Mikrobiologie größte praktische Bedeutung. Dies soll an folgenden Beispielen verdeutlicht werden:

Einer der Standardnährböden für die kulturelle Diagnostik enteraler Infektionen – und allgemein für Selektion und Differenzierung anspruchsloser, gramnegativer Bakterien – war der *Fuchsin-Sulfit-Laktose*-Agar nach ENDO. Er unterdrückt das Wachstum der meisten gram-positiven Bakterien, während sich Enterobakteriazeen und einige obligat aerobe gram-negative Bakterien ungehindert vermehren können und nach ihrem Laktose-Spaltungsvermögen differenziert werden. Beim fermentativen Abbau der im Medium enthaltenen Laktose entstehen nämlich intermediär Aldehyde, welche aus der farblosen, bei der Nährbodenzubereitung entstandenen fuchsinschwefligen Säure den Farbstoff Fuchsin freisetzen, der die entsprechenden Kolonien und ihre Umgebung rot färbt und auf manchen von ihnen als „Fuchsinglanz" auskristallisiert (typisch für normale Darmbakterien wie z.B. *Escherichia-*, *Enterobacter-*, *Citrobacter*-Arten). Bakterien ohne die Fähigkeit zur Laktosevergärung (z.B. Krankheitserreger wie Salmonellen und Shigellen) bilden demgegenüber auf ENDO-Agar farblose oder blaß-rosa Kolonien. Einen ähnlichen Einsatzbereich hat der MAC-CONKEY-Agar, der heute dem ENDO-Agar wegen der krebserzeugenden Wirkung von [illegible]

dung; Indikatorreaktion: Fällung von Desoxycholat und Eisensulfid-Bildung) oder der Salmonella-Shigella-Agar (SS-Agar) mit 2% Desoxycholat.
Häufig verwendete Differential- und Selektivnährböden sind ferner der Kaliumtellurit enthaltende CLAUBERG-II- bzw. -III-Nährboden sowie der TINSDALE-Agar zur Isolierung und Differenzierung von Corynebakterien. Auf weitere Differential- und Selektivnährböden wird im speziellen Teil bei den einzelnen Bakterienarten hingewiesen.

Kulturverfahren für Anaerobier

Obligate (strikte) Anaerobier können sich in Gegenwart von Luftsauerstoff nicht in Oberflächenkultur vermehren, häufig werden sie sogar durch Sauerstoff oder, wahrscheinlich eher, durch Anhäufung seiner toxischen Reaktionsprodukte, z.B. Wasserstoffperoxid und das Superoxid-Radikal, rasch abgetötet, offenbar weil ihnen die „entgiftenden" Enzyme *Superoxid-Dismutase* und/oder *Katalase* bzw. *Peroxidase* fehlen (s. Kap. 3.2.1). Zur erfolgreichen Anzüchtung anaerober Bakterien ist deshalb eine Gasatmosphäre erforderlich, aus der auf physikalischem, chemischem oder biologischem Wege der Luftsauerstoff mehr oder weniger weitgehend entfernt worden ist. Darüber hinaus sollten die verwendeten Kulturmedien ein ausreichend niedriges Redoxpotential (Eh) aufweisen, was durch Zugabe von geeigneten Reduktionsmitteln, „anaerobe Sterilisation" und Verhinderung sekundärer Aufoxidation erreicht wird.

Nährmedien für Anaerobier. Die einfachsten Nährböden zur Züchtung anaerober Krankheitserreger bestehen aus hochwertigen, komplexen Universalmedien (z.B. Hirn-Herz-Glukose-Medium, Hefeextrakt-Blutagar), denen Reduktionsmittel (z.B. Zystein, Na-Thioglykolat, Askorbinsäure) und eventuell ein Redoxindikator (z.B. Resazurin) zugesetzt werden. Beim Autoklavieren wird der gelöste Sauerstoff ausgetrieben und die Ingredienzien liegen in reduziertem Zustand vor. Um eine sekundäre Aufoxidation gering zu halten, müssen sie alsbald verbraucht oder unter Sauerstoffabschluß gelagert werden. Beispiele für diese Art von Anaerobiermedien sind die *Thioglykolat-Bouillon* als flüssiges An- [illegible]

Anaerobically **S**terilized). Eine Reihe klinisch wichtiger Anaerobier vermag sich nur dann ausreichend zu vermehren, wenn das Kulturmedium mit bestimmten Wuchsstoffen supplementiert wird. Dazu gehören u.a. Bikarbonat (als CO_2-Lieferant), Hämin, Vitamin K, Succinat und/oder Pyruvat.

Methoden zur Schaffung der sauerstoffreien Gasatmosphäre bzw. zur Erhaltung des niedrigen Redoxpotentials. Flüssige Anreicherungsmedien, in „hoher Schicht" in Reagenzgläser abgefüllt, werden beim Stehen an der Luft nur langsam von oben nach unten aufoxidiert. Besonders mit Zugabe einer geringen Agarmenge, die diesen Prozeß weiter verlangsamt, erlauben sie deshalb vielen Anaerobiern Tiefenwachstum (Tiefenkulturen), wenn vor der Beimpfung durch Erhitzen im Dampftopf der Sauerstoff entfernt, ein großes Inokulum eingebracht und das Medium während der Bebrütung nicht aufgeschüttelt wird. Durch Überschichten mit fest werdendem, sterilem Paraffin oder steriler Vaseline nach der Beimpfung kann weiterer Luftzutritt unterbunden werden, so daß anaerobe Verhältnisse auch für längere Bebrütungszeiten erhalten bleiben.

Besonders leistungsfähige Anreicherungsmedien, die nach diesem Prinzip arbeiten, enthalten zusätzlich Gewebestückchen, welche, etwa durch die Sulfhydryl-Gruppen ihrer Proteine, eine ausgeprägte Sauerstoffbindungsfähigkeit besitzen und verschiedenste Nährstoffe bereitstellen. Verwendet werden Leberstückchen (TAROZZI-Bouillon), Hirnbrei oder -stückchen (VON HIBLER-Medium; ROSENOW-Bouillon) oder Muskelfleisch („chopped/cooked meat medium"). Anaerobe Oberflächenkulturen auf Agarnährböden

topf verbleibenden Luftsauerstoff mit Wasserstoffgas katalytisch zu Wasser verbrennen.

Umgang mit Anaerobiern im Routinelaboratorium. Die kulturelle Diagnose einer Anaerobierinfektion wird um so zuverlässiger, je weniger das klinische Untersuchungsmaterial, die Nährmedien und die Primärkulturen mit Luft in Kontakt kommen. Die meisten anaeroben Krankheitserreger vertragen es allerdings durchaus, kurzfristig dem Luftsauerstoff ausgesetzt zu werden. Für Routinezwecke genügt es deshalb in der Regel, wenn die Materialproben rasch oder in reduzierenden Transportmedien transportiert und im Laboratorium baldigst verarbeitet werden. Außerdem sollten frisch hergestellte oder vor der Verwendung nochmals erhitzte Nährmedien zum Einsatz kommen, und die Kultivierung muß natürlich in Sauerstofffreier oder -armer Atmosphäre erfolgen. Anlage und Beurteilung der Primärkulturen sowie Überimpfungen werden meist an der Luft vorgenommen. Um die Dauer dieser Luftexposition bei vertretbarem Arbeits- und Materialaufwand nicht zu lange werden zu lassen, werden vielfach sogenannte „holding jars" eingesetzt. Dies sind Gefäße, die kontinuierlich mit Stickstoff und/oder Kohlendioxid durchströmt werden und in denen Untersuchungsproben, Kulturen

2

merziellen Systeme gewisse Unterschiede in Handhabung und Fehlermöglichkeiten auf. Grundsätzlich sind sie aber alle für den Routineeinsatz geeignet und tragen dazu bei, die Blutkulturdiagnostik erheblich zu beschleunigen.

Automatische Kultursysteme für Mykobakterien. Auch in der Diagnostik von Mykobakterieninfektionen, die von der Einführung der radiometrischen Verfahren besonders profitiert hat, ist die Entwicklung inzwischen in Richtung nicht-radioaktiver Verfahren weitergegangen, obwohl das klassische, radiometrische BACTEC-System für Mykobakterien immer noch vielerorts im Einsatz ist und auch als Standardverfahren gilt.

Im BACTEC-9000-MB-System der Firma Becton Dickinson Diagnostic Instrument Systems wird als Wachstumsindikator ein Sauerstoffsensor verwendet. Dieser besteht aus einem Ruthenium-Metall-Komplex, dessen Fluoreszenz in Anwesenheit von Sauerstoff unterdrückt wird. Mit zunehmendem Wachstum der obligat aeroben Mykobakterien wird Sauerstoff verbraucht, was eine zunehmend stärker werdende Fluoreszenz des Indikators auslöst, wenn die Flaschen mit UV-Strahlen von 365 nm Wellenlänge bestrahlt werden.

Im Gegensatz zu den Blutkulturen benötigen die Mykobakterien-Flüssigkultursysteme komplexe hemmende Zusätze, die das Wachstum anderer Bakterien und das Pilzwachstum so weit wie möglich unterdrücken sollen. Das resultierende Elektivmedium ist aber natürlich nicht in der Lage, auch das Wachstum aller phylogenetisch nahe verwandten Bakterienarten und ggf. multiresistenter Stämme anderer Arten zuverlässig zu unterdrücken. Deshalb gilt für alle flüssigen Mykobakterien-Kultursysteme, daß ein Bewuchs immer hinsichtlich der Identität der vorhandenen Mikroorganismen zu überprüfen ist, bevor auch nur eine Verdachtsdiagnose gestellt werden kann.

Das MB/BacT-System der Firma Organon Teknika verwendet demgegenüber einen kolorimetrischen Kohlendioxidsensor, der im Boden jeder Kulturflasche angebracht ist und Wachstum an der Konzentrationszunahme von Kohlendioxid mißt.

Andere Systeme, die bisher in Deutschland weniger gebräuchlich sind, verwenden auch zum Mykobakterien-Wachstumsnachweis Druckveränderungen in der luftdicht verschlossenen Kulturflasche.

Identifizierung von Bakterien

Der Vorgang der Identifizierung besteht in der Beschaffung möglichst umfassender Informationen (s. Tab. 2.4) über die Eigenschaften einer unbekannten Reinkultur, im Vergleich der erhaltenen Merkmale mit denen gut definierter Taxa und in der Benennung des Isolates nach demjenigen Taxon, mit dessen Beschreibung sich eine vollständige oder nahezu vollständige Übereinstimmung feststellen läßt. Da die zelluläre und kulturelle Morphologie der Bakterien nur eine vergleichsweise geringe Vielfalt aufweist, reichen morphologische Kennzeichen bei diesen Mikroben in der Regel zur Artdiagnose nicht aus (s.o.). Diese erfordert vielmehr die Untersuchung zusätzlicher molekularbiologischer, chemischer, physiologischer oder ggf. antigenetischer Eigenschaften, deren Zahl und Art von der Erfahrung und Intuition des Bakteriologen und von den biologischen Besonderheiten der jeweils bearbeiteten Bakteriengruppe abhängen (s. Tab. 2.4). Alle für die Identifizierung herangezogenen Merkmale sollten zuverlässig bestimmbar und konstant ausgeprägt sein.

Molekularbiologische Identifizierungsverfahren

Moderne molekularbiologische Verfahren wie die Bestimmung des Guanin- und Zytosingehaltes der chromosomalen DNA, DNA-DNA- oder DNA-rRNA-Hybridisierungen oder die Sequenzierung größerer Teile des DNA-Gens der ribosomalen RNA (rRNA) sind das methodische Rüstzeug, mit dessen Hilfe die Taxonomie der Bakterien inzwischen zunehmend auf eine präzisere phylogenetische Basis gestellt werden konnte. Viele dieser Methoden sind prinzipiell auch für den diagnostischen Einsatz geeignet, sind aber für diesen Zweck meist immer noch recht aufwendig und kostenintensiv. Ihre methodischen Grundlagen ebenso wie ihre Einsatzbereiche werden im Abschnitt „Molekularbiologische Verfahren in der mikrobiologischen Diagnostik“ (Kap. 2.3.4) ausführlich besprochen.

Chemotaxonomische Identifizierungsverfahren

Aufbau und Struktur der bakteriellen Zellwände, Komponenten der Zytoplasmamembran und des Zytoplasmas selbst sowie Inhaltsstoffe der äußeren Zellumhüllungen stellen taxonomische Merkmale dar, welche der Aussagekraft der später zu besprechenden molekularbiologischen Marker nur wenig nachstehen (s. Kap 3.1.2). Die entsprechenden Untersuchungsverfahren konnten inzwischen, wenigstens teilweise, so stark vereinfacht und standardisiert werden, daß sie sich auch für die Identifizierung von Krankheitserregern unter Routinebedingungen hervorragend nutzen lassen. Dies gilt z.B. für den relativ einfachen, dünnschicht- oder papierchromatographischen Nachweis der Isomeren der Diaminopimelinsäure aus bakteriellen Zellwänden, für die gaschromatographische Analyse von zellulären Fettsäuren oder für die dünnschicht- oder gaschromatographische Bestimmung der Mykolsäuren von Mykobakterien, Nocardien

und Corynebakterien, denen allen erhebliche differentialdiagnostische Bedeutung zukommt.

Physiologische Identifizierungsverfahren

Bakterien unterscheiden sich vielfältig in ihrer Enzymausstattung und damit in ihren Fähigkeiten, organische und anorganische Verbindungen ab- oder umzubauen. Vor allem die leicht meßbaren physiologischen („biochemischen") Leistungen ihres katabolen und Atmungsstoffwechsels haben sich seit langem für Identifizierungszwecke bewährt. Da viele dieser Stoffwechselleistungen durch verschiedene Indikatorreaktionen sichtbar gemacht werden können und da in der Regel mehrere Eigenschaften gleichzeitig in einer Reihe von Reaktionsansätzen überprüft werden, entsteht wegen der unterschiedlichen Farbreaktionen der einzelnen Indikatoren bei der Ablesung ein buntes Bild: Man spricht von einer **„Bunten Reihe".**

Nachweis von Atmungskettenenzymen. Vorhandensein oder Fehlen von Katalase, Zytochromoxidase und Peroxidasen haben große differentialdiagnostische Bedeutung.

Die *Katalase-Aktivität* einer Kultur läßt sich einfach prüfen, indem man sie direkt (auf einem blutfreien Nährboden) oder nach Übertragung einer kleinen Menge Koloniemasse auf einen Objektträger mit 3%iger H_2O_2-Lösung übergießt. Aufsteigende Gasblasen (O_2) zeigen die Anwesenheit des Enzyms an. *Zytochromoxidase* kann z.B. durch Übergießen der Kultur mit einer 1%igen Tetramethyl-p-phenylendiamin-Lösung nachgewiesen werden. Im positiven Falle entwickelt sich innerhalb von Sekunden bis Minuten

zymmusters der Bakterien gehören diese Vergärungstests zu den einfachsten und wichtigsten Identifizierungsverfahren.

Assimilation von Kohlenhydraten, Alkoholen, Glykosiden und Fettsäuren. Bakterien mit oxidativem Energiestoffwechsel bilden beim Abbau von Kohlenhydraten, wenn überhaupt, nur wenig Säure. Eine pH-Absenkung tritt deshalb nur dann ein, wenn das Züchtungsmedium wenig Pepton enthält, aus dem alkalische Valenzen freigesetzt werden können. Dieses Prinzip findet im OF-Medium nach HUGH und LEIFSON Verwendung, mit dem oxidative und fermentative Bakterien unterschieden werden können. Häufig prüft man die Verwertung von organischen Kohlenstoff- (und Stickstoff-) Verbindungen aber im sogenannten Auxanogramm.

Hierbei wird ein Mangelmedium eingesetzt, das – im Falle des C-Quellen-Auxanogramms – eine anorganische Stickstoffquelle (z.B. Ammoniumsulfat), die zu testende Kohlenstoffverbindung und Puffersalze enthält. Wenn der eingeimpfte Mikroorganismus in der Lage ist, die angebotene Kohlenstoffverbindung zu assimilieren, tritt makroskopisch sichtbares Wachstum ein; im anderen Falle bleibt das Medium unbewachsen. Auxanographische Verfahren werden sowohl zur Identifizierung obligat aerober (Nocardien, schnell wachsende Mykobakterien, Pseudomonaden) und fakultativ aerober Bakterien (z.B. Serratien) als auch verschiedener Pilze, insbesondere *Candida*-Arten, verwendet.

Dasselbe Verfahren ist auch bei fermentativen Bakterien zur Prüfung der Zitrat-Verwertung gebräuchlich (SIMMONS-Zitrat-Nährboden).

tallsalzen (z.B. Eisen-, Bleisalzen) nachgewiesen, die entweder dem Nährmedium zugegeben (Eisen) oder in Filterpapier (Bleiazetat) über der Nährbodenoberfläche aufgehängt werden und mit H_2S schwarze Niederschläge von Sulfiden ergeben.

Polytrope Differenzierungsmedien. Zur Arbeits- und Materialeinsparung wurden sogenannte polytrope Differenzierungsmedien entwickelt, in denen gleichzeitig mehrere Stoffwechselleistungen geprüft werden können. Ein typisches Beispiel dafür ist der *Zwei-Zucker-Eisen-Agar* nach KLIGLER, mit welchem die Vergärung von Glukose und Laktose, die H_2S-Bildung und die Gasbildung untersucht werden können. Wie der *Triple-Sugar-Iron-Agar* (Glukose, Laktose, Saccharose, H_2S, Gas) hat sich dieses Medium besonders zur Identifizierung von Enterobakteriazeen bewährt. Weitere polytrope Medien mit ähnlichem Einsatzbereich sind u.a. der Lysin-Eisen(Iron)-Agar (LIA) zum Nachweis von Lysindekarboxylase, Lysindesaminase und H_2S-Bildung oder das Motilitäts-Indol-Ornithin-Medium (MIO), mit dem auf Beweglichkeit, Indolbildung und Ornithindekarboxylase geprüft wird.

Nachweis von Desaminasen und Dekarboxylasen. *Lysin-* und *Ornithindekarboxylasen, Arginindihydrolase* und *Phenylalanindesaminase* liefern wertvolle Kriterien zur Differenzierung von Enterobakteriazeen und Vibrionazeen. Einen breiteren Einsatzbereich haben die Medien zur Prüfung der bakteriellen *Urease*-Aktivität: Bei der Spaltung von Harnstoff wird wie bei der Desaminierung von Aminosäuren Ammoniak freigesetzt, der zu einer Alkalisierung der Nährböden führt (Nachweis mit pH-Indikatoren wie z.B. Phenolphthalein) oder mit NESSLERS-Reagenz sichtbar gemacht werden kann. Mykobakterien können mit der Amidreihe nach BÖNICKE in ähnlicher Weise differenziert werden.

Kommerzielle Identifizierungssysteme. Seit einigen Jahren kommen laufend neue kommerzielle Testsysteme auf den Markt, die einige der oben genannten und ggf. zusätzliche Reaktionen zu vorgefertigten *„Bunten Reihen"* für einen jeweils definierten Anwendungsbereich zusammenstellen. Teils handelt es sich dabei um eine Aneinanderreihung konventioneller Differenzierungsmedien in Makroausführung (z. B. Enterotube II®, Oxi/Ferm-Tube II®), überwiegend aber um miniaturisierte Verfahren, die sich der Mikrotiterplatte oder davon abgeleiteter Träger mit vielen kleinen Reaktionsvertiefungen bedienen (z.B. API 20E®, API 20 Strep®, Crystal E/NF®, Rap ID ANA II®) und die neben den klassischen Differenzierungsreaktionen auch chromogene oder fluorogene Substrate zum Nachweis mikrobieller Enzymprofile enthalten. Für Bakterien mit oxidativem Kohlenhydratmetabolismus (API 20 NE®, Rap ID NF Plus®) und für Pilze (API 20 C AUX®, Uni-Yeast Tek®, YT® Biolog) werden darüber hinaus inzwischen auch miniaturisierte Testkits für Assimilationsprüfungen (Auxanogramme) kommerziell angeboten. Einige dieser Systeme werden manuell beimpft, weiterbearbeitet und mit bloßem Auge anhand des Farbumschlags verschiedener beigegebener Indikatoren oder anhand anderer makroskopisch sichtbarer Indikatorreaktionen abgelesen. Es gibt aber auch schon mechanisierte und teilweise oder völlig automatisierte Identifizierungssysteme (z.B. Cobas-Bact ID®, VITEK®, NEG ID Type 2®, Rapid Anaerobe®, Micronaut®), bei denen sowohl Schritte der Beimpfung und die Inkubation der Reaktionsansätze als auch die (photometrische oder nephelometrische) Ablesung der Ergebnisse einem Gerät überlassen werden, das zuweilen sogar über eine in einen Elektronenrechner eingespeicherte Datenbank das fertige Identifizierungsergebnis (Spezies-Diagnose) auswirft.

Manuelle kommerzielle Systeme zur Identifizierung von Mitgliedern der Familie *Enterobacteriaceae* haben inzwischen besonders weite Verbreitung gefunden. Darüber hinaus werden auch Testkits zur Identifizierung von nicht-fermentierenden und Oxidase-positiven, fermentierenden Bakterien, von Anaerobiern sowie von Streptokokken, Staphylokokken, Corynebakterien, Bazillen, Neisserien, *Haemophilus* spp. und Hefen angeboten. Die meisten *mechanisierten und/oder automatisierten Identifizierungssysteme* verwenden ebenfalls klassische Differenzierungsreaktionen (z.B. Säurebildung aus Kohlenhydraten, Zitratverwertung, H_2S-Bildung usw.), überlassen aber die Beimpfung bzw. die gleichmäßige Verteilung des Inokulums, die Bebrütung und/oder Ablesung (und gegebenenfalls Auswertung) der Ergebnisse dem Automaten.

Beurteilung dieser kommerziellen Identifizierungssysteme. Ein Vorteil dieser Systeme ist ohne Zweifel ihre gleichbleibende Qualität, die sich in industrieller Großserie besser gewährleisten läßt als in einer kleineren Nährbodenküche. Außerdem sind sie wegen der Miniaturisierung und Vorfertigung arbeits- und materialsparend und können mit speziell dazu gelieferten Auswertungscodes oder Auswertungsprogrammen einfach und schnell beurteilt werden. Einige Automaten nehmen dem Untersucher sogar diese

Arbeit ab und werfen ein fertiges Identifizierungsergebnis aus. Nachteilig ist jedoch, neben dem vergleichsweise hohen Preis, der besonders bei Automaten und Halbautomaten erheblich ins Gewicht fällt, daß der Benutzer entwöhnt wird oder überhaupt nicht mehr in der Lage ist, Einzelreaktionen abzulesen und auf Plausibilität bzw. technische Fehler (Nichtbeimpfung, Kontamination einzelner Reaktionskammern) zu überprüfen. Dadurch entsteht ein „Black-box-Effekt", der einen vermehrten Aufwand an Kontrollen erfordert, um die Fehlerhäufigkeit auf einem akzeptablen Niveau zu halten.

Als annehmbar gilt international eine durchschnittliche Übereinstimmung der Identifizierungsergebnisse von etwa 95% mit denen einer anerkannten Referenzmethode. Unter Routinebedingungen darf die so verstandene Richtigkeitsquote höchstens auf 90% absinken. Dabei sollten Aufwand und Kosten der erforderlichen Bestätigungs- und Überprüfungsuntersuchungen so niedrig wie möglich gehalten werden.

Von entscheidender Bedeutung für die Qualität der erhaltenen Identifizierungsergebnisse sind neben praktikablen Anwendungsvorschriften und grundsätzlicher Funktionssicherheit des jeweiligen Systems in erster Linie die Vollständigkeit, Fehlerarmut und Aktualität der zugrunde liegenden Datenbasis. Gerade im Hinblick auf die stetig und rasch wachsende Zahl pathogener Bakterien ist die Pflege und laufende Überprüfung dieser Datenbank von zentraler Bedeutung

Nennenswerte Fehlermöglichkeiten bzw. die Notwendigkeit einer lückenlosen Kontrolle der Ergebnisse durch qualifiziertes Fachpersonal sind auch der Grund dafür, daß die Benutzung kommerzieller Identifizierungssysteme mit und ohne Mechanisierung oder Automatisierung eine „do-it-yourself-Bakteriologie" im Praxis- oder Krankenhauslaboratorium ohne entsprechende Fachkenntnisse des Personals keinesfalls rechtfertigt. Denn einerseits kann das Arbeiten mit Krankheitserregern außerhalb der dafür vorgesehenen und eingerichteten Untersuchungsstellen zu einem nicht unerheblichen Sicherheitsrisiko werden, wenn die Grundregeln guter mikrobiologischer Technik nicht beherrscht oder nicht beachtet werden. Andererseits ist nur der erfahrene Mikrobiologe in der Lage, die käuflichen Systeme über eine qualifizierte Verdachtsdiagnose entsprechend ihrem recht begrenzten Anwendungsbereich einzusetzen, die unbeabsichtigte Untersuchung von Mischkulturen zu vermeiden oder zu erkennen und die erhaltenen Ergebnisse abschließend kritisch zu werten. Wo dies nicht gewährleistet ist, kann es, wie Ringversuche immer wieder zeigen, zu zum Teil grotesken Fehlidentifizierungen kommen, die dem betroffenen Patienten erheblichen Schaden zufügen können und die in sich selbst oder wegen erforderlicher Folgeuntersuchungen Unkosten verursachen, die gerade in der heutigen Zeit nicht vertretbar sind.

Nachweis weiterer, diagnostisch relevanter bakterieller Stoffwechselleistungen. Einige weitere, bisher nicht genannte bakterielle Stoffwechselleistungen haben diagnostische (und ggf. pathogenetische) Bedeutung. Unter den dafür verantwortlichen extrazellulären Stoffwechselprodukten sind die *Hämolysine* praktisch besonders wichtig (s. Kap. 4.1). Diese Enzyme lösen rote

stellen damit ein wichtiges Diagnostikum dar, auf das gerade bei der Identifizierung von Anaerobiern nicht verzichtet werden kann. Bei entsprechend modifizierter Anwendung sind GLC und HPLC auch für die Bestimmung chemotaxonomischer Merkmale (zellulärer Fettsäuren, Chinone, Kohlenhydrate, Proteine, Peptide, Aminosäuren) hervorragend geeignet.

Typisierung von Krankheitserregern

Die Identifizierung eines möglichen Krankheitserregers bis zur Speziesebene reicht in der Regel für eine zuverlässige diagnostische Bewertung aus; nur in Einzelfällen ist darüber hinaus die Bestimmung der Pathovarietät oder des spezifischen Toxinbildungsvermögens erforderlich. Für die Aufklärung von epidemiologischen Zusammenhängen, etwa bei Infektionshäufungen in Krankenhäusern, Schulen, Kindergärten oder Altenheimen, reicht die exakte Feststellung der Spezieszugehörigkeit der ursächlichen Erreger dagegen meist nicht aus, insbesondere dann nicht, wenn es sich um ubiquitäre Arten wie z.B. *Staphylococcus aureus*, Enteritis-Salmonellen, opportunistische Enterobakteriazeen oder Pseudomonaden handelt. Um hier Infektionsketten und Infektionsquellen nachvollziehen bzw. aufklären zu können, sind feinere Differenzierungen erforderlich, die Spezies oder Subspezies in eine mehr oder weniger große Zahl kleinerer Untereinheiten unterteilen. Diesen Vorgang nennt man „Typisieren" und die erhaltenen Untereinheiten werden als **Typen** oder, moderner, als **Varietäten** (var) bezeichnet.

Typisierungen lassen sich mit einer Reihe verschiedener Methoden erreichen. So kann man durch die Prüfung einer größeren Zahl stoffwechselphysiologischer Leistungen innerhalb des stoffwechselphysiologischen Basismusters einer Spezies **Biovarietäten** unterscheiden. Serologische Verfahren erlauben eine ggf. sehr feine Differenzierung ansonsten phänotypisch recht einheitlicher Spezies wie z.B. der Spezies *Salmonella enterica* oder *Yersinia enterocolitica* in verschiedene **Serovarietäten.** Neuerdings werden vermehrt molekularbiologische Verfahren zur Typisierung eingesetzt (z.B. Pulsfeldgelelektrophorese der durch Restriktionsenzyme geschnittenen chromosomalen Gesamt-DNA eines Bakteriums, Elektrophorese der durch Restriktionsenzyme gespaltenen Teile des mikrobiellen Genoms, die vorher über PCR amplifiziert wurden). Die **molekularbiologischen Typisierungsverfahren** erfreuen sich inzwischen großer Beliebtheit, weil sie praktisch universell einsetzbar sind und bei entsprechender Erfahrung und apparativer Ausrüstung zuverlässige Ergebnisse liefern.

Neben der Bio- und Serotypisierung hat in der Vergangenheit vor allem die **Lysotypie,** d.h. die Typisierung von Bakterien mit Hilfe spezifischer Bakteriophagen, große praktische Bedeutung gehabt und hat sie teilweise auch heute noch.

Prinzip der Lysotypie ist, daß es Bakteriophagen (Bakterien-befallende Viren) mit so schmalem Wirtsspektrum gibt, daß sie jeweils nur bei einzelnen Stämmen einer Art eine lytische Infektion hervorrufen. Bei geschickter Auswahl von Testphagen mit unterschiedlichem Wirtsspektrum läßt sich ein System aufbauen, dessen Phagensatz zu unterschiedlichen Lysisbildern oder Lysismustern (phage patterns) führt. Stämme, die das gleiche Lysismuster zeigen, gehören einem **Lysotyp** oder einer **Phagovar** an.

Voraussetzung für die praktische Nutzbarkeit der Lysotypie ist einerseits, daß sich eine Spezies auch tatsächlich hinsichtlich der Empfänglichkeit ihrer Mitglieder für eine lytische Phageninfektion unterscheidet und andererseits, daß es gelingt, ein genügend breites Spektrum von Bakteriophagen mit unterschiedlicher Spezifität zu finden. Dies setzt jahre- oder jahrzehntelange Arbeit voraus, so daß praktisch funktionierende Lysotypiesysteme nur für einzelne Bakterienarten existieren. Dies sind in erster Linie *Salmonella* Typhi (*S. enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhi), *Salmonella* Paratyphi B (*S. enterica* subsp. *enterica* Serovar Paratyphi B), *Salmonella* Enteritidis (*S. enterica* subsp. *enterica* Serovar Enteritidis), *Salmonella* Typhimurium (*S. enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhimurium) und *Staphylococcus aureus*. Bei allen genannten Bakterienarten, insbesondere aber vor allem bei *S. aureus*, hat die internationale Standardisierung der Lysotypie (internationaler Bakteriophagenbasissatz) in der Vergangenheit wie heute wieder erheblich zur Erkennung von epidemischen Häufungen, zur Aufklärung der Infektionsquellen und -ketten und damit zur Bekämpfung der Ausbrüche beigetragen.

Lysotypieverfahren wurden auch für eine ganze Reihe anderer Bakterienarten entwickelt, haben aber bei weitem nicht die Verbreitung und Bedeutung erlangt, die sie bei den vorher genannten Bakterien besaßen oder immer noch besitzen.

Neben der Typisierung, also der Differenzierung unterhalb der Speziesebene, können lytische

Bakteriophagen mit breiterem Wirtsspektrum auch zur Identifizierung auf Gattungs- oder Speziesebene verwendet werden. Besondere Bedeutung hat dieser Anwendungsbereich z.B. bei der Unterscheidung der Biovarietäten *cholerae* und *eltor* von *Vibrio cholerae* erlangt.

Diagnostische Tierversuche

Mit der Entwicklung leistungsfähiger *In-vitro*-Methoden für die Mikrobiologie hat die Bedeutung des diagnostischen Tierversuchs abgenommen. Für bestimmte Fragestellungen ist er aber auch heute noch nicht oder nicht völlig ersetzbar. Dies gilt insbesondere für die folgenden drei Anwendungsbereiche:

Nachweis von pathogenen Bakterien und Viren. Krankheitserreger mit hoher Virulenz für bestimmte Tierarten und schlechter oder fehlender *In-vitro*-Züchtbarkeit müssen oder können über geeignete Versuchstiere aus klinischem Untersuchungsmaterial nachgewiesen werden. Seit Einführung der radiometrischen Kulturverfahren hat der diagnostische Tierversuch auf *Mycobacterium tuberculosis* (Tbc-Tierversuch), der sich die maximale Empfänglichkeit des Meerschweinchens für diesen humanpathogenen Erreger nutzbar macht, erheblich an Boden und Berechtigung verloren. Er wird deshalb gegenwärtig praktisch nicht mehr verwendet. Außerdem kann der Tierversuch z.B. zur Erkennung von Legionellosen, Rattenbißfieber (Sodoku), Dermatophilosen, Borreliosen, Tularämie, Leptospirosen oder Enterovirus-Infektionen hilf-

ner verdächtigen Kultur, ein zweites Tier wird zusätzlich vorher mit einer ausreichenden Dosis des jeweiligen Antitoxins (Antiserums) behandelt, und einem dritten Tier werden zur Kontrolle (z.B. thermisch) inaktiviertes Untersuchungsmaterial oder toxinfreie Kulturflüssigkeit verabreicht. Erkrankt oder stirbt nur das erste Versuchstier, ist die Anwesenheit des gesuchten Toxins sehr zuverlässig bewiesen. Zeigen zwei oder alle drei Tiere Intoxikationserscheinungen, handelt es sich um andere als die erwarteten Giftstoffe. Bleiben alle Tiere gesund, kann die Anwesenheit von Toxinen in wirksamen Konzentrationen ausgeschlossen werden.

Mechanisierung und Automation in der Medizinischen Mikrobiologie

Wie bereits in den vorstehenden Abschnitten mehrfach angesprochen, gibt es in Analogie zur klinischen Chemie auch in der Medizinischen Mikrobiologie immer stärker werdende Bestrebungen, die diagnostischen Arbeitsgänge zu mechanisieren und automatisieren. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß die Medizinische Mikrobiologie wie etwa die Histologie eine primär überwiegend analysierend-interpretierende und weniger eine wägend-messende Disziplin ist. Der diagnostische Arbeitsablauf im mikrobiologischen Laboratorium als Ganzes von der Verarbeitung des Untersuchungsmaterials bis zur Befunderstellung ist deshalb einer Automation auch aus grundsätzlichen Erwägungen heraus kaum zugänglich; entsprechende Versuche mußten deshalb scheitern und werden wohl auch nicht mehr unternommen.

Einzelne Arbeitsschritte des mikrobiologischen Arbeitsspektrums sind dagegen, wie oben ausgeführt, grundsätzlich durchaus einer Automation zugänglich. Uneingeschränkt positiv müssen in diesem Zusammenhang die Blutkulturautomaten und die Automa-

baren Überprüfbarkeit der Ergebnisse besonders störend ins Gewicht fallen kann. Auf der anderen Seite kann der Einsatz von Computerprogrammen zur Auswertung einer größeren Anzahl von Identifizierungsmerkmalen zweifellos zur Vereinfachung und Objektivierung der Ergebnisse beitragen. Denn diese, von der numerisch-phenetischen Klassifizierung abgeleitete Methode der Computer-gestützten Identifizierung erlaubt es, Datenmengen vergleichend zu bewerten, welche die Gedächtnis- und Verarbeitungskapazität des Durchschnittsmenschen erheblich übersteigen.
Auch bei den grundsätzlich leistungsfähigen automatischen Systemen ist die Automation kein Vorteil an sich. Ihr Einsatz muß deshalb in jedem Einzelfalle im Sinne einer Kosten-Nutzen-Rechnung geprüft werden, bei der auch die Aufwendungen für zwingend erforderliche Kontrollen und Back-up-Systeme nicht vergessen werden dürfen.

Empfindlichkeitsprüfung von Krankheitserregern gegenüber antimikrobiellen Chemotherapeutika

Neben dem möglichst raschen und zuverlässigen Nachweis und der genauen Identifizierung der Erreger menschlicher Infektionskrankheiten kommt in vielen Fällen auch der Bestimmung ihrer individuellen Empfindlichkeit für potentiell wirksame antimikrobielle Pharmaka (Empfindlichkeitsprüfung, Resistenzbestimmung, Antibiogrammerstellung) entscheidende Bedeutung für die rasche und folgenlose Ausheilung des Krankheitsgeschehens zu. Dabei ist die Empfindlichkeitsprüfung ein *in-vitro*-Verfahren, dessen Ergebnisse nur unter bestimmten Voraussetzungen und mit Einschränkungen auf die Verhältnisse beim Menschen übertragen werden können. Die hierbei zu beachtenden Gesichtspunkte sind im Kapitel 3.5 („Antibakterielle Chemotherapie") ausführlich dargestellt; im folgenden sollen deshalb nur die wichtigsten methodischen Aspekte der Resistenzbestimmung kurz dargestellt werden.

quantitatives Ergebnis und erlauben wenigstens die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK), unter bestimmten Bedingungen auch die Bestimmung der minimalen bakteriziden Konzentration (MBK).
Voraussetzung für einwandfreie und reproduzierbare Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung mittels kultureller Verfahren ist die Verwendung geeigneter Nährmedien, die einerseits den zu prüfenden Erregern ein gutes Wachstum erlauben müssen und andererseits möglichst wenig oder besser keine Antagonisten enthalten dürfen, welche die Wirksamkeit einzelner Chemotherapeutika behindern können. Weiterhin wichtig ist die Standardisierung des Inokulums (der Mikrobeneinsaat), da stärkere Schwankungen der Einsaatdichte erhebliche Schwankungen des Ergebnisses der Empfindlichkeitsprüfung zur Folge haben können. Weitere Parameter, die zu beachten und zu standardisieren sind, sind Bebrütungszeit und -temperatur (letztere ist besonders kritisch bei der Prüfung von Staphylokokken auf Methicillin-Resistenz!).

Empfindlichkeitsprüfung schnell wachsender Bakterien

Bouillon-Reihenverdünnungstest (Bouillon-Dilutionstest). Die am längsten gebräuchliche, traditionelle Methode zur quantitativen Resistenzbestimmung schnell wachsender Bakterien ist der **Makro-Bouillon-Verdünnungstest (Röhrchenreihenverdünnungstest).** Sein Prinzip ist in Abb. 2.20 dargestellt: Mehrere Röhrchen (Reagenzgläser) enthalten jeweils gleiche Volumina einer geeigneten Bouillon mit geometrisch verdünntem Gehalt des jeweiligen Chemotherapeutikums. Nach Beimpfung und anschließender Bebrütung wird anhand makroskopisch sichtbarer Trübung festgestellt, bis zu welcher Konzentration des eingesetzten Chemotherapeutikums (in mg/l) noch Wachstum des eingeimpften Bakterienstammes feststellbar ist. Die

2

МНК

Agarmedien mit unterschiedlichen Antibiotikakonzentrationen aufgeimpft. Nach Bebrütung wird wiederum auf makroskopisch sichtbares Wachstum geprüft und die MHK analog dem Vorgehen beim Bouillonverdünnungstest festgelegt. Mit dem Agarverdünnungstest läßt sich die MBK nicht feststellen; auf der anderen Seite lassen sich nur ganz vereinzelt vorhandene resistente Varianten einer Population (als ganz wenige Einzelkolonien im Inokulationsbereich) erkennen, was für die Gesamtbewertung des Ergebnisses bedeutsam sein kann.

Agardiffusionstest. Beim Agardiffusionstest (Abb.2.21)werden mit einer bestimmten Menge von Chemotherapeutika beschickte, runde Filterpapierblättchen auf die Oberfläche eines zuvor mit dem zu testenden Bakterienstamm beimpften Agarmediums aufgelegt. Durch Diffusion der Wirkstoffe entsteht ein Konzentrationsgefälle, das sich radiär um das Testblättchen entwickelt. Empfindliche Bakterien wachsen unter Ausbildung eines kreisrunden Hemmhofs, dessen Durchmesser ein Maß für die Empfindlichkeit des jeweiligen Stammes ist. Die Bewertung der Hemmhofdurchmesser erfolgt durch vergleichende Untersuchungen entsprechender Stammkollektive im Dilutions- und Diffusionstest, so daß im Idealfall eine Beziehung zwischen MHK-Werten und ihren Bewertungsgrenzen und entsprechenden Hemmhofdurchmessern herzustellen ist.

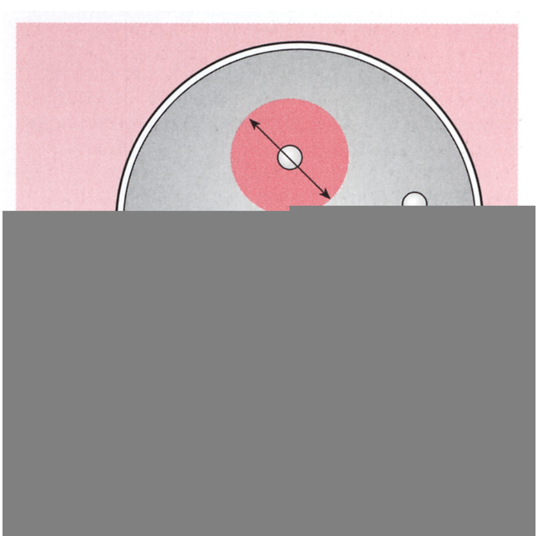


Abb. 2.21 Agardiffusionstest – schematische Darstellung.

Wegen seiner vergleichsweise einfachen Durchführbarkeit war der Agardiffusionstest lange Zeit das Routineverfahren der Wahl für die Empfindlichkeitsprüfung schnell wachsender Bakterien, auch wenn er die Genauigkeit der Dilutionstests bei weitem nicht erreicht. Wegen der möglichen Mechanisierung und Automatisierung hatten miniaturisierte Bouillondilutionstests, eventuell nach der sogenannten Breakpoint-Methode auf die beiden Grenzkonzentrationen für die Bewertung „empfindlich/intermediär“ bzw. „intermediär/resistent“ verkürzt, begonnen, den Agardilutionstest aus den Routinelaboratorien zu verdrängen. Wegen des immer schärfer werdenden Kostendrucks ist hier aber – leider – kürzlich wieder eine Umkehr eingetreten, da der Agardilutionstest im Vergleich zu den anzusetzenden Gebühren wesentlich kostengünstiger ist als der Bouillondilutionstest.

Empfindlichkeitsprüfung von langsam wachsenden oder besonders anspruchsvollen bakteriellen Erregern

Die vorstehend kurz dargestellten Techniken eignen sich zunächst nur für schnell, d.h. über Nacht, wachsende, nicht allzu anspruchsvolle Bakterienarten. Bei langsamerem Wachstum und deshalb erforderlicher, längerer Bebrütung kann es zu kaum kontrollierbaren spontanen Zerfallserscheinungen der antibakteriellen Chemotherapeutika kommen, die eine zuverlässige Beurteilung des Ergebnisses erheblich stören. Komplexe Nährmedien für anspruchsvolle Erreger enthalten zudem häufig große Mengen von Antagonisten, die wenigstens bestimmte antibakterielle Pharmaka in ihrer Wirkung nennenswert beeinträchtigen können. Dennoch lassen sich einige der hier in Frage kommenden bakteriellen Krankheitserreger bei entsprechender Modifikation der Testmethodik durchaus prüfen.

Dies gilt insbesondere für **Anaerobier,** die besonders zuverlässig mit Hilfe eines anaerob bebrüteten Agardilutionstestes hinsichtlich ihrer Antibiotikaempfindlichkeit untersucht werden können. Auch miniaturisierte Bouillondilutionstests können grundsätzlich so standardisiert werden, daß sie zur Resistenzbestimmung wenigstens der robusteren Anaerobierarten geeignet sind. Der Agardilutionstest hat allerdings gegenüber dem Bouillondilutionstest bei Anaerobiern den Vorteil, daß man ihn schon nach vergleichsweise kurzen Bebrütungszeiten (nicht

mehr als maximal 48 Stunden) zuverlässig mit der Lupe ablesen kann, was bei Bouillontests nicht immer ohne weiteres möglich ist. Bei den langsamer wachsenden aeroben und anaeroben Aktinomyzeten hat sich ein Agardilutionstest mit mikroskopischer Ablesung als besonders aussagekräftig erwiesen.
Auch die z.T. sehr langsam wachsenden Mykobakterien lassen sich prinzipiell mit einer Modifikation der Dilutionstests hinsichtlich ihrer Chemotherapeutikaempfindlichkeit prüfen. Früher dienten hierzu als Nährböden die genannten Eiernährmedien, denen entsprechende Chemotherapeutikakonzentrationen zugesetzt wurden. Heute werden zunehmend die Flüssigmedien eingesetzt, die bei den automatisierten Kulturverfahren für Mykobakterien beschrieben wurden.

In analoger Weise lassen sich ggf. auch noch anspruchsvollere bakterielle Erreger wie etwa Chlamydien in einem Gewebekulturassay prüfen. Außerdem wird bei schlecht kultivierbaren Erregern neuerdings zunehmend ein molekularbiologischer Ansatz zur Resistenzbestimmung durch Nachweis entsprechender Resistenzgene verfolgt. Soweit es sich dabei um konstitutiv exprimierte Genprodukte handelt, läßt sich durch den gezielten Nachweis eines Resistenzgens durchaus eine Aussage zur therapeutischen Brauchbarkeit des entsprechenden Chemotherapeutikums machen. Allerdings kann man gegenwärtig molekularbiologisch noch keineswegs ein Antibiogramm, also einen Überblick über die gesamte Chemotherapeutikaempfindlichkeit eines Stammes, erstellen, zumal dies auch beim gegenwärtigen Entwicklungsstand wirtschaftlich kaum vertretbar wäre.

Bestimmung des Chemotherapeutikumgehaltes in menschlichem Untersuchungsmaterial

Die Bestimmung des Gehaltes an antimikrobiellen Chemotherapeutika in menschlichen Untersuchungsmaterialien, die sogenannte Antibiotikaspiegelbestimmung, verfolgt im wesentlichen zwei Zwecke: Sie dient einerseits der therapiebegleitenden Überwachung des Blutspiegels (Drug-monitoring) und wird andererseits zur Analyse der Pharmakokinetik neuer Wirkstoffe benötigt. Aus Gründen der Praktikabilität und der problemlosen Gewinnbarkeit werden in der Regel Serumspiegel gemessen, und zwar vor allem bei Chemotherapeutika mit geringer therapeutischer Breite, d.h. mit geringem Abstand zwischen den notwendigen therapeutischen und den ggf. toxischen Konzentrationen. In der Praxis hat das vor allem bei der Therapie mit Aminoglykosiden, Peptidantibiotika und dem Fungistatikum Fluorcytosin Bedeutung.
Je nach zu analysierender Substanzgruppe und apparativer Ausrüstung des Labors kommen mikrobiologische Methoden (Bioassay), enzymatische Methoden, immunologisch-serologische Methoden und chromatographische Methoden zur Konzentrationsbestimmung in Betracht. Wegen der Störanfälligkeit bei Kombinationstherapie werden Bioassays heute kaum mehr eingesetzt. Durchgesetzt haben sich demgegenüber vor allem serologische Verfahren im Sinne von Enzym- oder Fluoreszenzimmunassays, vereinzelt aber auch chromatographische Techniken, etwa mit der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie.

Empfindlichkeitsprüfung bei anderen menschlichen Krankheitserregern

Die Bestimmung der Wirksamkeit von Antimykotika kann grundsätzlich mit denselben Verfahren, die oben für Bakterien beschrieben wurden, vorgenommen werden. Dabei ist allerdings der Einsatzbereich des Agardiffusionstestes deutlich begrenzter und kommt im wesentlichen nur zur Prüfung von 5-Fluorcytosin in Betracht. Ansonsten sind Reihenverdünnungstests zur Prüfung sowohl von Sproßpilzen als auch von Fadenpilzen vorzuziehen oder unverzichtbar.
Auch in der Virologie ergibt sich inzwischen zunehmend die Notwendigkeit einer individuellen Resistenzbestimmung einzelner Erregerstämme, insbesondere im Zusammenhang mit der HIV-Infektion. Hinsichtlich der methodischen Einzelheiten sei hier auf die entsprechenden Kapitel des virologischen Teils dieses Lehrbuchs verwiesen. In der Medizinischen Parasitologie haben Sensibilitätsprüfungen unter Routinebedingungen bisher keine praktische Bedeutung erlangt.

2.3.2 Serologische Untersuchungsverfahren

Basis aller serologischen Untersuchungsverfahren ist die **Antigen-Antikörper-Reaktion** (Ag-Ak-Reaktion), welche nicht nur *in vivo*, sondern unter geeigneten Bedingungen auch *in vitro* abläuft. Dabei bleibt die spezifische Bindung von Antigen und Antikörper (Primärreaktion) solange unsichtbar, bis es in einer zweiten Phase (Sekundärreaktion) zur Aggregatbildung oder Komplementaktivierung kommt oder die Ag-Ak-Bindung auf anderem Wege sichtbar gemacht wird. Die hohe Spezifität der Ag-Ak-Reaktionen und ihre vergleichsweise einfache

Nachweisbarkeit im Laboratorium machen es möglich, sie – mit bekanntem Antigen – zur Suche nach Antikörpern im Patientenserum einzusetzen **(Prinzip der serologischen Krankheitsdiagnose).** Mit bekannten Antikörpern kann andererseits auch eine serologische Identifizierung unbekannter, an Korpuskeln gebundener oder gelöster Antigene herbeigeführt werden **(Prinzip der serologischen Identifizierung oder Typisierung von Krankheitserregern, Toxinen und anderen Antigenen).**

Die **Empfindlichkeit** serologischer Untersuchungsverfahren ist in der Regel wesentlich höher als die chemischer Nachweisreaktionen. Das hat aber auch zur Folge, daß die Ag-Ak-Reaktion potentiell anfällig für methodische Störungen ist. Aus diesem Grunde muß jeder serologische Test durch positive und negative *Kontrollansätze* abgesichert und überprüft werden. Dies gilt grundsätzlich auch für die Verwendung **monoklonaler Antikörper** (s. Kap. 1.2.1), obwohl deren Homogenität hinsichtlich Immunglobulin-Klasse, Idiotyp, Spezifität und Affinität manche Fehlermöglichkeiten, die dem Umgang mit polyklonalen Antiseren eigen sind, vermeidet.

– richtiger – als deren Kehrwert (z.B. 260) angegeben werden. Bei entsprechender Standardisierung des Reaktionsablaufs kann daraus die Antigen-bindende Kapazität des Serums in mg/ml Serum oder „Einheiten“ errechnet werden.

Bei der Austitrierung von Agglutinationsreaktionen wird manchmal folgende Erscheinung beobachtet: Die Reaktion bleibt bei geringen Serumverdünnungen aus, wird dann bei stärkerer Verdünnung sichtbar und verschwindet schließlich bei Überschreiten des Endtiters wieder. Ein solcher Reaktionsausfall wird als *Prozonenphänomen* bezeichnet. Er kann auftreten, wenn im Serum gleichzeitig „komplette“ (IgM) und „inkomplette“ (z.B. IgG) Antikörper vorliegen. Letztere können die antigenen Determinanten besetzen, ohne zur Sekundärreaktion zu führen. Außerdem blockieren sie die Antigene für die Bindung der «kompletten» Antikörper. Da bei gleichzeitigem Vorkommen üblicherweise mehr „komplette“ als „inkomplette“ Antikörper vorhanden sind, kann durch stärkere Serumverdünnung doch noch eine sichtbare Reaktion herbeigeführt werden. Dasselbe gilt, wenn die inkomplette Reaktion durch einen starken Antikörper-Überschuß ausgelöst ist. Prozonenphänomene können außerdem durch Veränderung der Serumproteine (Erhitzung) oder durch die Anwesenheit großer Mengen kolloidalen Fremdmaterials hervorgerufen werden. An die Möglichkeit des Auftretens eines Prozonenphänomens muß beim serologischen Arbeiten gedacht

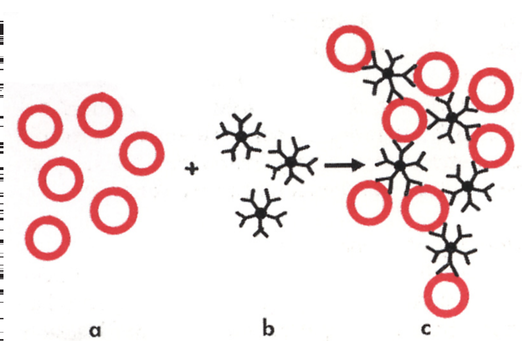
terverlauf spricht demgegenüber für einen länger zurückliegenden natürlichen Kontakt mit dem Erreger oder für den Folgezustand nach einer vorausgegangenen Schutzimpfung. Eleganter läßt sich die Frage, ob es sich um eine floride oder in der Vergangenheit abgelaufene Infektion handelt, häufig durch Nachweis erregerspezifischer IgM- oder IgA-Antikörper (s.u.) beantworten.

Agglutinationsreaktionen

Unter **Agglutination** versteht man die Zusammenballung (Aggregation) und Sedimentation in wäßrigem Milieu suspendierter, Antigen-tragender Zellen oder Partikel (z.B. Erythrozyten, Bakterien, Latex-Partikel) als Folge einer Immunkomplexbildung durch Bindung spezifischer Antikörper. Die Entstehung makroskopisch sichtbarer Agglutinate geht dabei sowohl auf eine Veränderung der negativen Oberflächenladung (Z-Potential) der Partikel als auch auf eine Vernetzung der Antigen-tragenden Elemente durch makromolekulare Antikörper zurück (Abb. 2.22). Das makroskopische Erscheinungsbild der Agglutinate kann dabei variieren und hängt vor allem von der Beschaffenheit der Antigen-tragenden Teilchen ab.
Der Ablauf der Erythrozyten- ebenso wie der der Bakterien-Agglutination wird offenbar durch eine Reihe weiterer Faktoren beeinflußt. Diese umfassen die Größe der Antikörpermoleküle (IgM-Moleküle wirken mehr als 100fach stärker agglutinierend als IgG-Moleküle), die Anzahl bzw. Dichte antigener Epitope auf der Zell- oder Partikeloberfläche, den Expositionsgrad der antigenen Determinanten in bezug auf diese Oberfläche, das Summenpotential der Außenladung der Partikel sowie Viskosität und Ionenstärke des Testmediums. Bakterien, die zur Bildung von Kapseln befähigt sind, werden darüber hinaus nicht selten bei Anwesenheit dieser Kapselsubstanzen in ihrer Agglutinabilität verändert. Komplement ist für den Ablauf der Agglutinationsreaktionen nicht erforderlich; neben den genannten Faktoren müssen aber auch noch Mindestreaktionszeit und geeignete Reaktionstemperaturen berücksichtigt werden. Wie bei allen anderen serologischen Verfahren hängt die Zuverlässigkeit der Ergebnisse entscheidend von der exakten Durchführung und sorgfältigen Ablesung des Testes ab.
Agglutinationsreaktionen kann man sowohl auf dem Objektträger als auch im Reagenzglas oder als „Mikroagglutination“ in den Vertiefungen von Mikrotiterplatten durchführen. Typische Beispiele der *Objektträgeragglutination* sind die **Blutgruppenbestimmung** oder die serologische Identifizierung bzw. Typisierung von Salmonellen und Shigellen.

Bakterienagglutinationen

Agglutinationsreaktionen mit lebenden oder toten Bakterien finden sowohl bei der Diagnostik von Infektionskrankheiten als auch zur Identifizierung angezüchteter Bakterien Verwendung. Je nach Zielsetzung und Erregerarten werden die folgenden Verfahren unterschieden:
Reaktion nach Gruber und Durham. Schon 1896 entdeckten Gruber und Durham, daß Bakterien durch die Seren von Tieren, denen Zellen der entsprechenden Bakterienart einige Zeit vorher injiziert worden waren, spezifisch zusammengeballt werden können. Auf dieser



genügend lange bestehenden oder ggf. früher durchgemachten Typhuserkrankung zur Agglutination der Bakteriensuspension. Bei diesem Test wird demnach ein *unbekannter Antikörper* mit Hilfe eines bekannten Antigens bzw. einer bekannten, Antigene tragenden bakteriellen Zelle nachgewiesen. Für die Reaktion sind abgetötete Suspensionen der jeweiligen Bakterienarten geeignet. Neben Antikörpern gegen Körperantigene (O-Antigene) lassen sich mit der WIDAL-Reaktion auch Antikörper gegen Geißel- (H-Antigene) und Kapsel-Antigene (K-Antigene) nachweisen (s. Kap. 4.4).

WEIL-FELIX-Reaktion. 1915 züchteten WEIL und FELIX aus dem Urin von Fleckfieberpatienten *Proteus*-Stämme, die mit dem Serum dieser Patienten eine Agglutination ergaben. Der *Proteus*-Stamm OX 19 erwies sich als besonders reaktionsstark. Heute wissen wir, daß dieses Bakterium und der Fleckfiebererreger *Rickettsia prowazekii* gemeinsame Antigen-Determinanten besitzen, so daß die WEIL-FELIX-Reaktion auf einer echten Kreuzreaktion (heterophilen Reaktion) und nicht auf Unspezifität beruht. Der Erreger des murinen Fleckfiebers zeigt dieselbe Antigengemeinschaft, während *Proteus* OX 2 beim Rocky-Mountain-Spotted Fever und *Proteus* OX K beim Tsutsugamushi-Fieber bessere Ergebnisse liefern.

Agglutinations-Lysis-Reaktion. Die Agglutinations-Lysis-Reaktion ist ein mikroskopischer Agglutinationstest zur Identifizierung von Leptospiren oder zum Nachweis gegen sie gerichteter Antikörper. Zur Lysis der Leptospiren kommt es trotz des Namens der Reaktion nicht, sondern nur zu einer besonders dichten und formverändernden Zusammenballung der fragilen Erreger zu kleinen Körnchen, die unter dem Dunkelfeldmikroskop eine partielle Auflösung vortäuschen.

Nachweis „inkompletter" Antikörper. Sogenannte komplette Antikörper sind Immunglobuline, mit denen sich Agglutinationen ohne besondere Kunstgriffe auslösen lassen; sie gehören, wie oben ausgeführt, nahezu ausschließlich der IgM-Klasse an. Antikörper anderer Immunglobulinklassen führen dagegen unter den üblichen, einfachen Reaktionsbedingungen nur ausnahmsweise zu einer Agglutination. Diese Antikörper werden deshalb auch als „inkomplett" bezeichnet. Da nach ihrer Bindung an das spezifische Antigen die spontane Sekundärreaktion meist ausbleibt, läßt sich die abgelaufene Primärreaktion nur durch Kunstgriffe, z.B. durch Verminderung der Oberflächenladung, feststellen. Darüber hinaus kann die erfolgte Bindung „inkompletter" Antikörper unter Ausnutzung des Agglutinationsprinzips aber noch mit folgenden, in der Praxis wichtigen Verfahren nachgewiesen werden:

Antiglobulin-(COOMBS-)Test. Der COOMBS-Test beruht auf der Zugabe eines zweiten, im Tier erzeugten Antikörpers, der gegen menschliche Immunglobuline gerichtet ist (Antihumanglobulinserum: COOMBS-Serum) und am Fc-Stück des „inkompletten" Antikörpers angreift. Darüber hinaus spielen Antikörper gegen C3- und C4-Fragmente des Komplementsystems, die sich in den meisten Antiglobulinseren finden, eine Rolle, da bei der Bindung der „inkompletten" Antikörper über die Komplementaktivierung auch C3 und C4 an die Zellmembran bzw. die Hüllstrukturen der Mikroorganismen angelagert werden. Sind Antigen-tragende Zellen oder Partikel mit „inkompletten" menschlichen Antikörpern besetzt, können sie somit durch Zugabe des COOMBS-Serums zur Agglutination gebracht werden, da letzteres die erforderliche Quervernetzung herbeiführt. Ein positives Ergebnis des COOMBS-Tests besagt also, daß vorher die zu beweisende Ag-Ak-Reaktion mit „inkompletten" Antikörpern abgelaufen ist.

Blocking-Test. Beim Blocking-Test geht man von derselben Annahme wie beim COOMBS-Test aus: Man erwartet, daß die antigenen Oberflächendeterminanten korpuskulärer Elemente durch „inkomplette" Antikörper besetzt wurden. Ist dies der Fall, können die Antigen-tragenden Partikel durch nachfolgende Zugabe spezifischer, „kompletter" Antikörper nicht zur Agglutination gebracht werden, da für letztere nicht mehr genügend Bindungsstellen zur Verfügung stehen. Hier entspricht demnach das negative Resultat des zweiten Versuchsschritts (Zugabe „kompletter" Antikörper) einem positiven Ausfall der ursprünglich zu prüfenden Ag-Ak-Reaktion.

Beide Verfahren sind in der serologischen Diagnostik von **Brucellosen** von praktischer Wichtigkeit, da bei diesen Infektionskrankheiten charakteristischerweise mit der Anwesenheit größerer Mengen „inkompletter" Antikörper zu rechnen ist. Der Antiglobulin-Test findet darüber hinaus in der **Transfusionsmedizin** und bei der **Schwangerenvorsorge** (jeweils Nachweis „inkompletter", antierythrozytärer Antikörper) verbreitete und unersetzliche Anwendung.

Hämagglutinationen

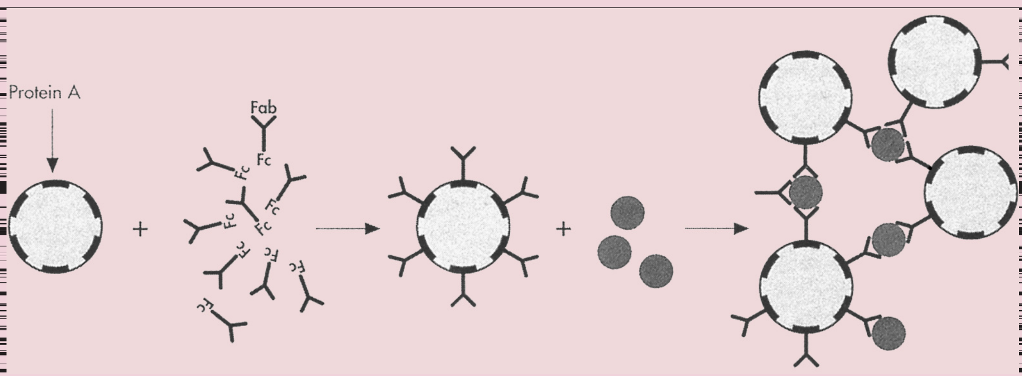
Bei der *Hämagglutination* ist das rote Blutkörperchen Antigen-tragendes korpuskuläres Element. Sind die reagierenden Antigene Bestandteil der Oberfläche der Erythrozytenmembran, spricht man von *aktiver* oder *direkter* Hämagglutination. Man kann die Erythrozyten aber auch sekundär, oft nach geeigneter Vorbehandlung,

mit Fremdantigenen beladen, die dann durch

infektionen) nur verwerten, wenn höhere Titer vorlie-

verschiedener Mikroorganismen; dazu gehören u.a. Streptokokken verschiedener Serogruppen, *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis*, Serovare A, B, C, Y und W 135, *Haemophilus influenzae* Typ b, *Cryptococcus neoformans* und Hepatitis-B-Virus. Außerdem kann auch der Clumping-Faktor von *Staphylococcus au-*

Antikörper im Testmedium mit löslichem Antigen, wodurch die anschließende Agglutination von Indikatorpartikeln oder -zellen gehemmt wird. Als inzwischen klassischer Anwendungsbereich der spezifischen Agglutinationshemmung kann der Nachweis von menschlichem Choriongonadotropin (HCG) im Urin zur Fest-



sichtbaren Niederschlag ausgefällt. Die Ursache für die Überschreitung der Löslichkeitsgrenze der Ag-Ak-Komplexe ist wahrscheinlich die Entstehung eines Netzwerks aus multivalenten Antigenen und wenigstens bivalenten Antikörpern, wodurch Aggregate erheblicher Größe entstehen können (s.o.). Außerdem haben pH-Wert und Ionenstärke einen Einfluß auf das Zustandekommen der Präzipitation. Stärker als bei der Agglutination ist die Bildung sichtbarer Präzipitate vom richtigen Mengenverhältnis von Antigen und Antikörper abhängig. Bei größerem Antigen- oder Antikörperüberschuß bleiben die Ag-Ak-Komplexe in Lösung, oder die bereits gebildeten Niederschläge lösen sich wieder auf.

Ringtest

Die methodisch einfachste Form der Immunpräzipitation wird im Reagenzglas oder in dünnen Glaskapillaren durchgeführt. In ihnen werden Antigen- und Antikörper-haltige Lösungen vorsichtig überschichtet; an der Berührungsfläche beider Lösungen bilden sich dann im positiven Falle Präzipitate aus, die als weißliche Scheibe oder Trübungsring erkennbar werden und später im Reaktionsgefäß zu Boden sinken. Im Rahmen der mikrobiologischen Diagnostik wird diese einfache Technik zum Nachweis von Milzbranderregern in tierischen Organen („Thermopräzipitation“ nach ASCOLI: Milzbrandimmunserum wird mit Kochextrakten der Organe überschichtet) und zur serologischen Gruppierung von Streptokokken nach LANCEFIELD verwendet (s. Kap. 4.2).

Immunpräzipitationen in Gelen

Immunpräzipitationen kommen nicht nur in flüssigen Medien, sondern auch in Gelen zustande. Die Präzipitate sind hier sogar meist beständiger und deshalb besser zu beurteilen. Außerdem können Gemische aus mehreren Antigenen und Antikörpern analysiert werden, da die homologen Ag-Ak-Komplexe jeweils eigene Präzipitationsbanden ausbilden. Als Geliermittel werden überwiegend Agar-Agar oder Agarose verwendet. Zur besseren Sichtbarmachung können die Präzipitationslinien mit Protein-Färbeverfahren angefärbt werden.

Passive Immunpräzipitationsverfahren

Bei den passiven Immunpräzipitationsverfahren bewegen sich die Reaktionspartner, lösliches Antigen und Antikörper, durch *Diffusion* im Gel aufeinander zu. An den Stellen optimaler Konzentrationsverhältnisse von Antigen und Antikörper bilden sich Präzipitationsbanden oder -linien aus, die mit bloßem Auge gegen dunklen Hintergrund sichtbar werden und sich durch Anfärbung deutlicher darstellen lassen.

Eindimensionaler, einfacher Agardiffusionstest. In ihrer einfachsten Modifikation wird die Geldiffusion als eindimensionaler einfacher Agardiffusionstest nach OUDIN im Reagenzglas durchgeführt. Dazu wird Antiserum mit flüssigem Agar vermischt und das Gemisch in ein Glasröhrchen gefüllt. Nach der Verfestigung des Gels wird mit Antigenlösung überschichtet. Nach Stunden bis Tagen entstehen im Agar Präzipitationsbanden, die bei längerer Beobachtung nach unten zu wandern scheinen, da sich bei zunehmendem Antigenüberschuß die Präzipitate wieder auflösen und in etwas weiterer Entfernung von der Oberfläche des Gels neu ausbilden. Die Präzipitationsprobe auf Milzbrand kann mit Vorteil nach dieser Technik ausgeführt werden.

Zweidimensionaler, einfacher Agardiffusionstest. Für den zweidimensionalen, einfachen Agardiffusionstest wird mit Antiserum vermischter Agar in einer Petrischale in gleichmäßiger Schichtdicke ausgegossen. Aus dem erstarrten Gel werden Löcher ausgestanzt, in welche Antigenlösung eingefüllt wird. Bei passendem Mengenverhältnis von Antigen und Antikörper entwickeln sich kreisförmige Präzipitationshöfe, deren Durchmesser bei Standardisierung des Verfahrens zur quantitativen Bestimmung des Antigens herangezogen werden kann (*quantitative radiale Immundiffusion [RID] nach* MANCINI). Die Methode wird vor allem zur Quantifizierung menschlicher Serumproteine verwendet.

Doppeldiffusion in einer Dimension. 1953 haben OAKLEY und FULTHORPE eine Methode zur Antigen-Analyse angegeben, bei der Antigen und Antikörper in zwei aufeinander stehenden Agarsäulen im Reagenzglas gegeneinander diffundieren.

Doppeldiffusion in zwei Dimensionen. Bei der 1948 von ÖRJAN OUCHTERLONY eingeführten Agargel-Doppeldiffusionstechnik werden Antigen- und Antikörperlösungen in Stanzlöcher gefüllt, die vorher aus einer gleichmäßig dicken Agar- oder Agaroseschicht ausgehoben wurden. Im Bereich der aufeinander zu diffundierenden Reaktionspartner bilden sich Präzipitationslinien aus, wenn optimale Konzentrationsverhältnisse erreicht sind. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß Antigene und Antikörper direkt miteinander verglichen werden können. Denn bei immunologisch identischen Antigenen und Antikörpern vereinigen sich die Präzipitatlinien zweier benachbarter Einfüllöcher, gegen die der andere Reaktionspartner aus einem gemeinsamen Stanzloch diffundiert, in einem Bogen vollständig miteinander *(Identitätsreaktion)*. Bei

Kreuzreaktionen entsteht ein sogenannter Sporn *(partielle Identität)* und bei unterschiedlichen Antigenen oder Antikörpern kommt es zur Überschneidung der Banden. Die OUCHTERLONY-Technik hat sich außerordentlich zur Identifizierung verschiedener Plasmaeiweißkörper und zum Vergleich tierischer und mikrobieller Antigene sowie zur Charakterisierung tierischer und mikrobieller Toxine bewährt. Als Sonderform der Doppeldiffusionstechnik kann der ELEK-OUCHTERLONY-Test zum Nachweis des Toxinbildungsvermögens von *Corynebacterium diphtheriae* gelten (s. Kap. 4.17).

Aktive Immunpräzipitationen

Bei den sogenannten aktiven Immunpräzipitationsverfahren erfolgt die Fortbewegung von Antigen und/oder Antikörper im Gel nicht durch Diffusion, sondern durch die Antriebskräfte einer elektrischen Potentialdifferenz. Je nachdem, ob nur einer der Reaktionspartner oder beide elektrophoretisch aufgetrennt werden, spricht man von kombiniert aktiv-passiven oder rein aktiven Verfahren.

Kombinierte aktiv-passive Immunpräzipitationsverfahren. Zu den kombinierten Verfahren gehören z.B. die klassische Immunelektrophorese (IEP) nach GRABAR und WILLIAMS, die Immunfixationselektrophorese (IFE) und die Radioimmunelektrophorese.

Immunelektrophorese. Die IEP, die 1953 von GRABAR und WILLIAMS eingeführt wurde, ist eine Kombination der Doppeldiffusionstechnik mit der elektrophoretischen Auftrennung komplexer Antigengemische. Sobald die Elektrophorese abgeschlossen ist, wird in der Laufrichtung ein Graben im Gel ausgehoben, der mit entsprechendem Antiserum gefüllt wird. Die Antikörper diffundieren in Richtung auf die getrennt vorliegenden Antigene und bilden mit diesen Präzipitationslinien, wenn optimale Konzentrationsverhältnisse erreicht sind. Mit dieser Methode wird eine sehr genaue

Radioimmunelektrophorese. Die Radioimmunelektrophorese wird als empfindliches Verfahren zum qualitativen Nachweis von Antikörpern gegen Antigene benutzt, die in reiner Form mit einem gammastrahlenden Isotop markiert sein müssen. Nach elektrophoretischer Auftrennung des Testserums wird das radioaktiv markierte Antigen zusammen mit einem komplexen Antiserum gegen Globuline des Testserumspenders in die Rinnen gefüllt und der Diffusion überlassen. Nach deren Abschluß wird das vollständig gewaschene Gel mit einem empfindlichen Röntgenfilm in Kontakt gebracht. Die erhaltene Autoradiographie zeigt an, in welcher oder welchen Präzipitationsbanden das markierte Antigen vorhanden ist.

Rein aktive Immunpräzipitationsverfahren. Als Beispiele für die aktiven Immunpräzipitationsverfahren seien die Gegenstromimmunelektrophorese (Counter[current]immunoelectrophoresis, CIEP) und der Elektroimmunassay („Rocket Immunoelectrophoresis") erwähnt.

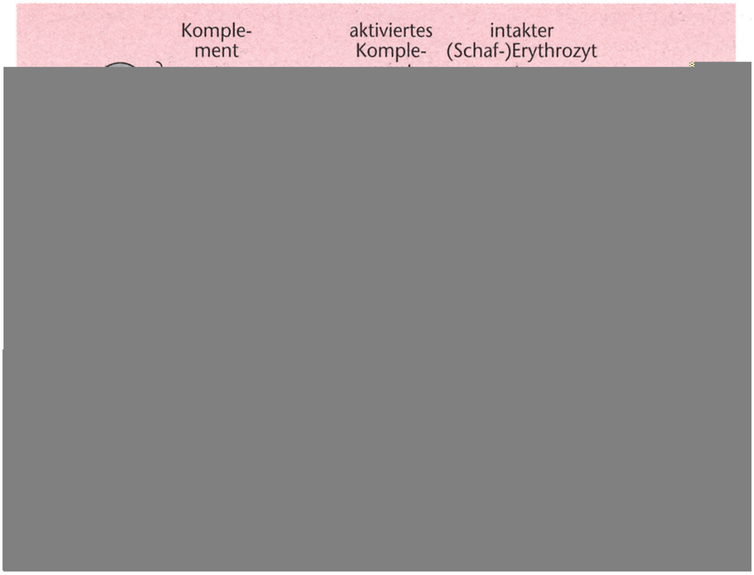
Gegenstromimmunelektrophorese. Unter den verschiedenen Modifikationen der immunelektrophoretischen Technik hat die CIEP besondere praktische Bedeutung für die medizinische Mikrobiologie. In Analogie zur Doppeldiffusion nach OUCHTERLONY werden Antigen- und Antikörperlösung in zwei Stanzlöcher eines Agarose-Gels eingefüllt, aber in diesem Fall nicht durch Diffusion, sondern elektrophoretisch aufeinander zu getrieben. Antigen wird in die kathodenwärts gelegene Vertiefung und das Antiserum in das anodale Stanzloch gegeben. Bei Anlegen einer elektrischen Spannung wandert das negativ geladene Antigen anodenwärts; die Antikörper werden durch den Ionenfluß zur Kathode mitgerissen (Elektroendoosmose). Im Bereich optimaler Konzentrationsverhältnisse beider Reaktionspartner bilden sich Präzipitationslinien aus.

Die CIEP hat sich besonders zur Auffindung mikrobieller Antigene in Körperflüssigkeiten bewährt; zum Antikörpernachweis ist sie wegen geringer Empfindlichkeit weniger geeignet. Da die Ergebnisse vergleichsweise schnell verfügbar sind, gehört sie zu den diagnostischen Schnellmethoden. Ihr Anwendungsbe-

Western-Blot-Technik (Immunoblot). Mit Hilfe der Immunoblot-Technik werden heute z.B. sehr spezifisch Antikörper gegen verschiedene Bestandteile der AIDS-Erreger, von *Borrelia burgdorferi* (*B. afzelii*) oder von *Yersinia enterocolitica* nachgewiesen. Bei dieser Methode werden zunächst die Proteinantigene mit Hilfe der SDS-Gradienten-Polyacrylamidgel-Elektrophorese aufgetrennt. Die getrennten Proteine werden dann durch Elektrotransfer (Elektroblotting) auf eine geeignete Membran (z.B. Nitrozellulosefiltermembran) übertragen und hier mit dem zu untersuchenden Patientenserum zur Reaktion gebracht. Haben sich Antikörper an die auf die Membran übertragenen Proteine gebunden, können diese mit der Technik eines Enzymimmunassays z.B. mit Meerrettich-Peroxidase-markiertem Antihumanglobulinserum oder eines Radioimmunassays (s. Kap. 5.1.13)

In der praktischen bakteriologisch-serologischen Diagnostik spielt die direkte Anwendung der Immunbakteriolyse keine wesentliche Rolle. Historisch hat aber der PFEIFFERsche Versuch (1896), bei dem es nach Injektion virulenter Cholera-Vibrionen in die Bauchhöhle vorher gegen Cholera immunisierter Meerschweinchen zu einer mikroskopisch nachweisbaren Lyse der Vibrionen kommt, große Bedeutung für die Entwicklung der Immunitätsforschung gehabt. Der gleiche Effekt der Vibriolyse läßt sich im *umgekehrten* PFEIFFER*schen Versuch* auch dann erzeugen, wenn die Vibrionen zusammen mit spezifischem Antiserum bei nicht immunisierten Versuchstieren in die Peritonealhöhle eingespritzt werden. Das Phänomen der Bakteriolyse, das sich analog bei anderen gramnegativen Bakterien beobachten läßt, kommt, wie wir heute wissen, durch Aktivierung des in der Peritonealflüssigkeit des Meerschweinchens vorhandenen Komplementsystems (s. Kap. 1.2.5) zustande.

Komplementbindungsreaktion (KBR). Das 1901 von BORDET und GENGOU erarbeitete Prin-


Komple-
ment
aktiviertes
Komple-
intakter
(Schaf-)Erythrozyt

rologische Technik entwickelt, die sowohl zur Identifizierung unbekannter Antigene und Antikörper als auch zum topographischen Nachweis von Antigenen in Zellen und Geweben geeignet ist. Das Prinzip dieser mikroskopischen Immunfluoreszenzverfahren besteht darin, daß auf einem Objektträger fixierte Antigen-tragende zelluläre Elemente, die mit Fluorochrom-markierten Antikörpern besetzt sind, unter einem Fluoreszenzmikroskop als farbig leuchtende Objekte oder Strukturbestandteile gegen dunklen Hintergrund sichtbar werden. Hat keine Ag-Ak-Reaktion stattgefunden, bleibt die „Anfärbung" aus, vorausgesetzt daß überschüssiges markiertes Antiserum sorgfältig abgewaschen wurde. Die mikroskopische Immunfluoreszenztechnik kann in verschiedenen Modifikationen zur Anwendung kommen.

Direkter mikroskopischer Immunfluoreszenztest

Die direkte Immunfluoreszenztechnik dient zur Identifizierung von Mikroorganismen oder zur Lokalisation verschiedener Antigene in Zellen und Gewebe. Sie benutzt fluorochromierte, in der Regel im Tier hergestellte spezifische Antikörper gegen das erwartete Antigen (Abb. 2.25, Farbtafeln). Neben der Identifizierung von Erregerkulturen kann die direkte Immunfluoreszenz auch zum Erregernachweis in klinischen Untersuchungsmaterialien herangezogen werden und gehört damit zu den spezifischen Schnellmethoden der mikrobiologischen Diagnostik. Käufliche, Fluorochrom-markierte Antiseren sind u.a. zum Nachweis folgender Erreger erhältlich: *Bordetella pertussis* und *parapertussis, Escherichia coli* (K- und O-Antigene), *Francisella tularensis, Haemophilus influenzae, Klebsiella*-Arten, *Legionella*-Arten, Leptospiren, Listerien, *Neisseria gonorrhoeae* und *meningitidis, Burkholderia pseudomallei*, Salmonellen, Shigellen, Staphylokokken, Pneumokokken, Streptokokken verschiedener serologischer Gruppen, *Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Candida albicans*, Kryptosporidien, sowie für eine ganze Reihe von Viren (Adeno-, Cytomegalie-, EPSTEIN-BARR-, Herpes-simplex-, Influenza-, Röteln-, Mumps-, Parainfluenza- und Tollwut-Viren).

Indirekter mikroskopischer Immunfluoreszenztest

Zur Suche nach unbekannten Antikörpern wird die indirekte Technik eingesetzt (s. Abb. 2.25, Farbtafeln): In einem ersten Arbeitsschritt werden auf dem Objektträger fixierte Zellen mit bekannter Antigenstruktur mit Serum (z.B. Patientenserum), in dem nach Antikörpern gegen diese Antigene gesucht werden soll, überschichtet und inkubiert. Nach sorgfältigem Waschen des Präparates wird anschließend ein fluorochromiertes Antigammaglobulin (z.B. Antihumangammaglobulin) aufgebracht. Letzteres kann die Antigen-tragenden Zellen nur zum Aufleuchten bringen, wenn in dem untersuchten Serum (z.B. Patientenserum) spezifische Antikörper vorhanden waren, die sich im ersten Schritt der Methode an die homologen Antigene gebunden haben und nun als Antigen mit dem markierten Antigammaglobulin reagieren.
Aufleuchten des Antigens unter dem Fluoreszenzmikroskop bedeutet also, daß das untersuchte Serum (z.B. Patientenserum) den gesuchten Antikörper enthält; das Testergebnis ist positiv. Ein negativer Reaktionsausfall, d.h. das Fehlen des gesuchten Antikörpers, wird am Ausbleiben der Fluoreszenz erkennbar.
In gleicher Weise kann auch ein unbekanntes Antigen mit Hilfe von bekannten Antiseren er-

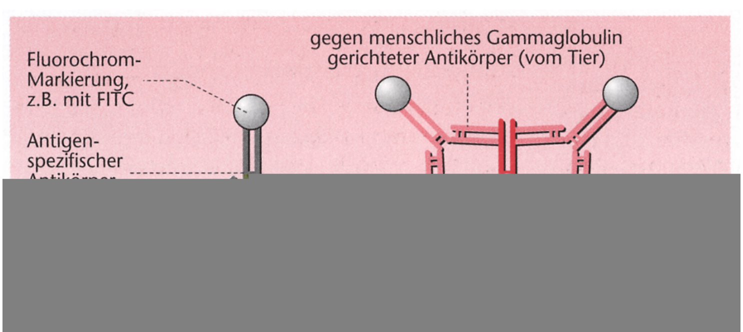


Abb. 2.25 Schematische Darstellung des direkten und indirekten mikroskopischen Immunfluoreszenztests.

mittelt werden. Werden tierische Antiseren im Testsystem benutzt (z.B. im Kaninchen erzeugte Antiseren), muß ein fluorochromiertes Antigammaglobulinserum gegen das Gammaglobulin der betreffenden Tierart (z.B. Anti-Kaninchen-Gammaglobulinserum) verwendet werden. Der Vorteil des indirekten Verfahrens (Doppelschichttechnik) liegt in seiner größeren Empfindlichkeit im Vergleich zur direkten Technik und in der Tatsache, daß man mit wenigen markierten Antigammaglobulinseren auskommt.
Unter den indirekten diagnostischen Immunfluoreszenzverfahren hat der FTA-Test (**F**luoreszenz-**T**reponema-**A**ntikörper-Test), heute meist als FTA-ABS-Test mit Vorabsorption des Patientenserums zur Entfernung kreuzreagierender Antikörper, besonders weite Verbreitung gefunden. Ebenso bewährt haben sich inzwischen auch indirekte Immunfluoreszenzmethoden zum Nachweis von Antikörpern gegen Legionellen, *Chlamydia trachomatis, Toxoplasma gondii* (Ablösung des wegen Infektionsgefahr nicht ungefährlichen Serofarbtestes nach SABIN und FELDMAN), Plasmodien, Sproßpilze und viele Viren.
Als weitere Modifikation kann zum Nachweis erfolgter Komplementbindung ein fluorochromiertes Antikomplementserum verwendet werden, mit dessen Hilfe speziell Komplement-bindende Ag-Ak-Reaktionen nachgewiesen werden können.

Immunperoxidase-Tests

Analog der Immunfluoreszenztechnik lassen sich Antikörper anstatt mit Fluorochromen auch mit Enzymen wie der Meerrettich-Peroxidase markieren. Haben sich derartig markierte Antikörper an ein Antigen angelagert, kann ihre Anwesenheit durch die nachfolgende Reaktion mit einem Entwicklungsreagenz sichtbar gemacht werden. Bei Verwendung von 3,3-Diaminobenzidin oder 4-Chloro-1-naphthol tritt z.B. im positiven Falle eine Braunfärbung auf; im Negativfall bleibt die Färbung aus.
Die aufgetretene Farbreaktion kann sowohl mikroskopisch mit Hilfe eines einfachen, laborüblichen Durchlichtmikroskops als auch sogar makroskopisch festgestellt werden. Wegen der einfacheren Durchführbarkeit und Auswertbarkeit gewinnen Immunperoxidase-Testverfahren zunehmend an Bedeutung. Ihr Einsatzbereich entspricht völlig dem der Immunfluoreszenztechnik: Sie können sowohl zur Identifizierung oder Lokalisierung von Antigenen als auch zum Antikörpernachweis eingesetzt werden. Anwendungsgebiete sind u.a. der Antigennachweis von *Treponema pallidum,* Chlamydien oder Herpes-simplex-Virus bzw. der Antikörpernachweis gegen diese Antigene.

Neutralisationsreaktionen

Mit den Neutralisationsreaktionen prüft man die Fähigkeit spezifischer Antikörper, die Infektiosität von Mikroorganismen oder die Toxizität ihrer Stoffwechselprodukte für lebende biologische Objekte aufzuheben, zu „neutralisieren“. Damit stehen diese Untersuchungsverfahren in direkter Beziehung zu den Schutzmechanismen, die auf diese Antikörper *in vivo* zurückgehen.

Toxin-Antitoxin-Tierversuche

Wie im Kap. „Diagnostische Tierversuche“ (in Kap. 2.3.1) besprochen, dienen Toxin-Antitoxin-Tierversuche zum Nachweis mikrobieller Giftstoffe in menschlichem Untersuchungsmaterial, Lebensmitteln oder Kulturüberständen, oder sie werden zur Standardisierung therapeutischer oder prophylaktischer Antiseren (z.B. Diphtherie-Antitoxin) benutzt.

Weitere Toxin-Neutralisationsreaktionen

Ihrem Wesen nach ebenfalls Neutralisationsreaktionen sind die Antistreptolysin-O-Reaktion (ASL-O) und der Antidesoxyribonuklease-B-Test (ADB), die beide zur Diagnose einer durchgemachten oder noch laufenden Infektion mit *Streptococcus pyogenes* dienen. Das von diesen Bakterien gebildete, gewebstoxische Stoffwechselprodukt Streptolysin O besitzt die Fähigkeit, Erythrozyten aufzulösen. Bei Infektionen mit Streptokokken bildet der menschliche Körper spezifische Immunglobuline gegen das Streptolysin, welche seine hämolysierende Wirkung *in vitro* zu neutralisieren vermögen. Ähnlich hemmen im ADB-Test neutralisierende Antikörper die Aktivität des Streptokokkenenzyms Desoxyribonuklease B (Streptodornase).

Neutralisationsreaktionen in der Virologie

Für die Virologie haben Neutralisationsreaktionen (Neutralisation der Infektiosität) nur noch begrenzte praktische Bedeutung (s. Kap. 5.1.13). Sie dienen dabei einerseits zur Identifizierung von Viren oder zur Bestimmung von Antigenverwandtschaften; andererseits werden sie zum Nachweis spezifischer Antikörper, also zur serologischen Krankheitsdiagnose, eingesetzt.

Immobilisationsreaktionen

Bei einzelnen beweglichen Bakterienarten führt der Kontakt mit den gegen sie, vor allem aber mit den gegen ihre Geißelantigene gerichteten

Antikörpern zu einer raschen Hemmung ihrer Beweglichkeit im mikroskopischen Nativpräparat. Darauf aufbauend wurden Verfahren zur schnellen Identifizierung von Bakterien und zur serologischen Krankheitsdiagnostik entwickelt. Wichtigstes Beispiel für den letzteren Anwendungsbereich ist der *Treponema pallidum*-Immobilisationstest (TPI-Test), der 1949 von NELSON und MAYER eingeführt wurde und den Durchbruch zu einer spezifischen Lues-Serodiagnostik darstellte, inzwischen aber durch den FTA-ABS- und den TPHA-Test abgelöst wurde. Gute Dienste zur Schnellerkennung der Cholera leistet der *Vibrio cholerae*-Immobilisationstest, der sowohl mit nativem Reiswasserstuhl der Kranken als auch mit kurz bebrüteten, flüssigen Anreicherungskulturen durchgeführt werden kann und eine vorläufige Erregeridentifizierung erlaubt.

Kapselquellungsreaktionen

des Äquilibriums werden gebundene und ungebundene Anteile des Analyten voneinander getrennt (z.B. durch Präzipitation des Ag-Ak-Komplexes oder durch primäre Adsorption des Antikörpers an die Wand des Reaktionsgefäßes) und die Radioaktivität der Ag-Ak-Komplexe wird gemessen. Je höher die Konzentration des gesuchten (unmarkierten) Analyten im Untersuchungsmaterial war, desto geringer wird die Radioaktivität der Ag-Ak-Komplexe sein.

Die zweite Modifikation des RIA wird als *Reagenz-Überschuß-* oder *Sandwich-Technik* bezeichnet. Zu ihrer Durchführung wird gewöhnlich der Antikörper radioaktiv markiert und in Überschußkonzentrationen eingesetzt. Der Analyt wird aufgrund seiner Bindung an den radioaktiv markierten Antikörper gemessen.

Seinem Wesen nach ist der RIA ein quantitatives Verfahren; er erlaubt also die Mengenbestimmung des gesuchten Analyten (Antigen oder Antikörper). In der medizinischen Mikrobiologie wurde er früher hauptsächlich zur Bestimmung von Aminoglykosid-Konzentrationen im Patientenserum und zum Nachweis bakterieller oder viraler (z.B. HBsAg) Antigene in Körperflüssigkeiten eingesetzt. Die Entwicklung einfacherer (z.B. Latex-Agglutination, Koagglutination, Gegenstromelektrophorese) oder analoger Verfahren, die ohne radioaktiv-markierte Reagenzien auskom-

die zu untersuchende Serumprobe in den „sensibilisierten“ Vertiefungen inkubiert, um etwa vorhandene Antikörper an das immobilisierte Antigen zu binden. Dann werden alle Serumbestandteile, die nicht reagiert haben, ausgewaschen und ein Enzym-markiertes Antihumanimmunglobulin (Konjugat) wird zugegeben, welches sich an den vorher gebundenen spezifischen Antikörper anlagert. Nach erneutem Waschen wird eine Lösung der Substanz, die dem zur Markierung verwendeten Enzym als Substrat dient, zugegeben, die Reaktion wird nach ausreichender Inkubationszeit unterbrochen und die Umsatzleistung des Enzyms wird, gewöhnlich anhand einer Farbreaktion, gemessen. Diese indirekte Methode läßt sich nur durchführen, wenn ausreichend gereinigtes Antigen zur Verfügung steht. Wenn das nicht der Fall ist, kann die feste Phase (z.B. Plastikoberfläche der Vertiefungen in den Mikrotiterplatten) mit dem spezifischen Antikörper beladen werden. Im weiteren Testablauf werden dann zugegeben: ungereinigtes Antigen, zu untersuchendes Serum, Enzym-markiertes Antihumanglobulin (Konjugat), Substrat.
Eine weitere Modifikation ist, zunächst nichtmarkiertes Antihumanglobulin nach folgendem Schema einzusetzen: Antigen auf der festen Phase, zu untersuchendes Serum, nicht-markiertes Antihumanglobulin, Enzym-markiertes Antihumanglobulin, Substrat. Bei der *Sandwich-Methode* wird die feste Phase mit Antigen beladen, dann werden das zu untersuchende Serum, dann Enzym-markiertes Antigen und schließlich Substrat zugegeben.
ELISA-Methoden zum Antigennachweis. Zum Antigennachweis hat die *Sandwich-Methode* mit Überschuß an markiertem Antikörper die weiteste Verbreitung gefunden. Sie läuft nach folgendem Schema ab: Spezifische Antikörper an der festen Phase, zu untersuchende Probe (Antigen), Enzym-markierter spezifischer Antikörper, Substrat.

Unter Einfügung eines zusätzlichen Versuchsschrittes kann auch mit Antikörpern von zwei verschiedenen Spender-Spezies gearbeitet werden: Festphasen-Antikörper (z.B. vom Schaf), zu untersuchende Probe (Antigen), spezifischer Antikörper (z.B. vom Kaninchen), Enzym-markiertes Anti-Kaninchen-Immunglobulinserum, Substrat.
Weitere Modifikationen sind erforderlich, wenn es um den Nachweis von kleinmolekularen Haptenen geht.

Der Anwendungsbereich der ELISA-Technik in der Mikrobiologie erweitert sich ständig und umfaßt inzwischen u.a. folgende Gebiete: Nachweis von mikrobiellen und viralen Antigenen in Körperflüssigkeiten; Nachweis von Toxinen (Aflatoxinen, *Clostridium difficile*-Toxin); Nachweis von Parasitenantigenen (z.B. *Schistosoma mansoni, Toxoplasma gondii*); Konzentrationsbestimmungen von Aminoglykosiden; Nachweis von Antikörpern gegen viele verschiedene Krankheitserreger.

Fluoreszenzimmun(o)assay (FIA)

FIA-Techniken finden gegenwärtig in klinischen Laboratorien breite Anwendung zum Nachweis und zur Quantifizierung von Arzneimitteln, Hormonen, Proteinen und Peptiden in Körperflüssigkeiten. Diese Verfahren sind schnell, empfindlich und automatisierbar und stellen Alternativen zum RIA ebenso wie zum ELISA dar. Der Versuchsaufbau ist ähnlich wie beim RIA und ELISA, nur daß hier Fluorochrome zur Markierung verwendet werden und die Bindung der fluorochromierten Reaktionspartner, gegebenenfalls nach vorheriger enzymatischer Abspaltung, über ein Fluorometer nachgewiesen und quantifiziert wird.
In die Mikrobiologie hat der kompetitive FIA vor allem zur Konzentrationsbestimmung von Aminoglykosiden oder Peptidantibiotika im Patientenserum Eingang gefunden.

Nachweis von IgM-Antikörpern

Wegen ihrer Größe können die makromolekularen IgM-Antikörper den Kreislauf kaum verlassen und werden deshalb auch nicht diaplazentar von der Mutter auf den Föten übertragen. Außerdem werden sie im Verlauf einer Infektion als erste ausgebildet, verschwinden aber während der Heilungsphase bald (in Wochen oder Monaten) und werden gegenläufig durch IgG-Antikörper ersetzt. Diese beiden Eigenschaften verleihen ihnen spezielle diagnostische Bedeutung: Einerseits kann man sie dazu benutzen, auf serologischem Wege zwischen floriden und abgelaufenen Infektionskrankheiten zu unterscheiden; andererseits erlauben sie festzustellen, ob beim Neugeborenen vorhandene Antikörper von der Mutter stammen (Leihimmunität – IgG) oder im Rahmen einer intrauterin erworbenen Infektion vom Kind selbst gebildet wurden (IgM) und damit auf eine behandlungsbedürftige Erkrankung des Kindes hinweisen.
Methodisch ist der IgM-Nachweis relativ aufwendig, da er in der Regel, obwohl grundsätzlich mit mehreren der genannten serologischen Verfahren durchführbar, zunächst eine Entfernung des IgG und des Rheumafaktors erfordert (z.B.

durch Dichtegradienten-Ultrazentrifugation, IgG-Immunpräzipitation, Serumabsorption mit Protein A bzw. *Staphylococcus aureus*, Gel-Ionenaustauscher-, Affinitäts- oder Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie).

Monoklonale Antikörper in der diagnostischen Mikrobiologie

Monoklonale antivirale, antibakterielle und antiparasitäre Antikörper haben sich besonders zur raschen und zuverlässigen **Identifizierung** verschiedener Mikroben in der Kultur außerordentlich bewährt. Dabei kann man sowohl Antikörper mit sehr enger Spezifität zur Identifizierung auf Subspezies- und Typenebene einsetzen; man kann aber auch monoklonale Antikörper breiterer Reaktivität verwenden, die dann zur Erkennung von Mikrobengruppen (z.B. Genera) oder zur phylogenetischen Klassifizierung von Mikroorganismen herangezogen werden können.
Gerade wegen ihrer hohen und definierten Spezifität sind monoklonale Antikörper darüber hinaus besonders gut zum unmittelbaren **Erregernachweis** in klinischen Untersuchungsmaterialien geeignet. In Kombination mit empfindlichen Immunoassays bieten sie sich zur automatisierten Analyse von Blut und anderen Körperflüssigkeiten auf mikrobielle Antigene an. Schließlich eignen sie sich auch als hochspezifische Reaktionspartner für chromatographische Trennungen und möglicherweise sogar zur Immuntherapie mikrobieller oder neoplastischer Erkrankungen.
Der Vorteil des monoklonalen Antikörpers ist seine hohe und definierte Spezifität sowie, wenn die hybridisierte Zellinie einmal etabliert ist, seine theoretisch unbegrenzte Verfügbarkeit in gleichbleibender Qualität. Dem stehen allerdings auch Nachteile gegenüber: Die *Hybridom-Technik* (Fusion einer Myelom-Zelle mit einer Antikörper-bildenden Zelle) ist immer noch arbeitsintensiv, nicht billig und zeitaufwendig. Außerdem stellt jeder monoklonale Antikörper nur einen in einer großen Zahl von Antikörpern dar, welche die gesamte Immunantwort ausmachen, so daß er auch nur einen kleinen Teil der Eigenschaften eines konventionellen Antiserums besitzen kann. Es darf deshalb nicht angenommen werden, daß ein polyklonales Antiserum automatisch und in jedem Falle durch einen monoklonalen Antikörper ersetzt werden kann.

2.3.3 Schnellverfahren zur Diagnose von Infektionskrankheiten

Der Zeitbedarf der konventionellen mikrobiologischen Diagnostik, die auf die Anzüchtung und Identifizierung des jeweiligen Krankheitserregers abzielt, läßt sich wegen der vorgegebenen Generationszeit der Mikroorganismen nicht beliebig verringern und ist zumindest in Stunden, meist in Tagen und zuweilen sogar in Wochen zu messen. Daraus resultieren notwendigerweise Schwierigkeiten für den Arzt am Krankenbett, der gerade bei hochakuten oder lebensbedrohenden Krankheitszuständen möglichst bald wissen möchte, ob es sich um eine Infektionskrankheit handelt, welche Erreger gegebenenfalls vorliegen und wie er sie am besten behandeln kann.
Um diesem verständlichen Anliegen nach rascher Information Rechnung zu tragen, wurden sogenannte Schnellverfahren entwickelt. Unter Schnellverfahren verstehen wir in diesem Zusammenhang solche Techniken, die mindestens innerhalb einiger Stunden nach Eintreffen des Untersuchungsmaterials im Laboratorium, also am gleichen Tag, ein verwertbares Ergebnis liefern. Einige der bereits angesprochenen Methoden können grundsätzlich diesem Anspruch gerecht werden. Ihre diagnostische Aussagekraft reicht aber nicht ohne weiteres an die Sicherheit und Genauigkeit der Erregerkultur heran, und sie ermöglicht auch keine individuelle Prüfung der Wirksamkeit geeigneter Therapeutika.
In der Tabelle 2.5 sind einige wichtige, heute gebräuchliche Schnellverfahren mit ihrem hauptsächlichen Einsatzbereich und ihrem Zeitbedarf zusammengestellt. In der Spalte „Diagnostische Zuverlässigkeit“ haben wir versucht, anhand der Empfindlichkeit, Spezifität und Störanfälligkeit der jeweiligen Methode eine Bewertung ihrer praktischen Brauchbarkeit vorzunehmen. Dabei wird eingeräumt, daß sich einige Techniken noch verbessern oder feiner adaptieren lassen, so daß sie in Zukunft vielleicht einen höheren Stellenwert einnehmen können.
Der in Tab 2.5 angegebene **Limulus-Test** wurde bisher nicht besprochen und soll deshalb zum besseren Verständnis hier noch kurz beschrieben werden:

Das Amöbozytenlysat (Blutzellysat) des Pfeilschwanzkrebses *Limulus polyphemus* (Königskrabbe) wird durch Endotoxin zum Gelieren gebracht. Diese Reaktion beruht darauf, daß Lipopolysaccharid eine Serinprotease aktiviert, die lösliches Protein in einen

Tab. 2.5 Leistungsfähigkeit und Anwendungsbereich gebräuchlicher Schnellverfahren zur Diagnostik von Infektionskrankheiten (modifiziert nach CHMEL 1981)

Technik	Untersuchungsziel	Hauptsächlicher Anwendungsbereich	Empfindlichkeit	Zeitbedarf	Erregerspezifität Gruppe	Art	Typ	Diagnostische Zuverlässigleit
GRAM-Präparat	mikroskopischer Erregernachweis	viele Bakterien- und Pilzinfektionen	≥ 10^5 Organismen pro ml (g)	≤ 30 min	x			mäßig
Limulus-Test	Endotoxin-Nachweis	Sepsis und Meningitis durch gram-negative Bakterien	≤0,1 ng Endotoxin oder 1000 gram-negative Bakterien pro ml	1 h	x			Meningitis: gut Sepsis: schlecht
Gegenstrom-immunelektrophorese	Nachweis mikrobieller Antigene und Toxine	verschiedene Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virusinfektionen	0,01–0,05 mg Antigen pro ml	≤ 1 h		x	x	gut
	Antikörpernachweis	verschiedene Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virusinfektionen	5–10 ng Ak-Stickstoff pro ml	≤ 1 h		x	x	mäßig
Latex agglutination	Nachweis mikrobieller Antigene	verschiedene Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virusinfektionen	0,5–5 ng Antigen pro ml	< 10 min		x	x	mäßig bis gut
	Antikörpernachweis	verschiedene Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virusinfektionen	1–10 ng Ak-Stickstoff pro ml	< 10 min		x	x	sehr gut
Immun-fluoreszenz	Nachweis der Erreger oder ihrer Antigene	verschiedene Bakterien- und Virusinfektionen	≥ 10^4 Organismen/ml (g) 0,5–5 ng Antigen pro ml	< 2 h	x	x	x	gut bis sehr gut
	Antikörpernachweis	verschiedene Bakterien- und Virus-Infektionen	1–10 ng Ak-Stickstoff pro ml	< 2 h		x	x	sehr gut
Koagglutination	Nachweis mikrobieller Antigene	verschiedene bakterielle Infektionen	0,01–0,05 mg Antigen pro ml	< 10 min		x	x	mäßig bis gut
Radioimmuno-assay	Nachweis mikrobieller Antigene	Hepatitis-Diagnostik	0,5 ng Antigen pro ml	< 3 h		x	x	sehr gut
ELISA	Nachweis mikrobieller Antigene	verschiedene Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virusinfektionen	0,5 ng Antigen pro ml	> 3 h		x	x	gut bis sehr gut
	Antikörpernachweis	verschiedene Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virusinfektionen	≤ 0,001 mg Ak-Stickstoff pro ml	> 3 h		x	x	sehr gut

Tab. 2.5 *(Fortsetzung)*

Technik	Untersuchungsziel	Hauptsächlicher Anwendungsbereich	Empfindlichkeit	Zeitbedarf	Erregerspezifität Gruppe	Art	Typ	Diagnostische Zuverlässigleit
Elektronenmikroskopie	Virusnachweis	z.B. Pocken-, Varizellen-, Herpes-simplex-, Rotaviren	≥ 10^5 Viria pro ml	≥ 1 h	x	x		gut bis sehr gut
Gaschromatographie	Nachweis bakterieller Stoffwechselendprodukte	Anaerobierinfektionen	> 1 mval pro ml	≤ 2 h	x			mäßig bis sehr mäßig
Gaschromatographie/ Massenspektrometrie	Nachweis bakterieller Zellbestandteile	Tuberkulosediagnostik (Nachweis von Tuberkulostearinsäure)	> 0,1 mval pro ml	≤ 20 h	x			mäßig bis gut
Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)	Zellbestandteil und bakterielle Stoffwechselendprodukte, Antibiotika	Antibiotika-Spiegelbestimmungen, Anaerobierinfektionen	ca. 10^{-10} g pro ml	≥ 2 h	x			mäßig (bei Antibiotika sehr gut
Nukleinsäurehybridisierungstechniken	Nachweis erregerspezifischer DNA oder RNA	verschiedene Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virusinfektionen	≥ 10^4 Genome pro Probe	> 3 h	x	x	x	sehr gut
Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	Nachweis erregerspezifischer DNA oder RNA	verschiedene Bakterien-, Pilz-, Protozoen- und Virusinfektionen	≥ 1 Genom pro Probe	≤ 2 Tage	x	x	x	sehr gut, Kontaminationsgefahr

unlöslichen Komplex umwandelt, und sie ist so empfindlich, daß sie zum Nachweis sehr kleiner Endotoxinmengen in menschlichen Körperflüssigkeiten, vor allem im Blut und im Liquor, geeignet ist. Bei der Diagnostik von Meningitiden, die durch gram-negative Bakterien (z.B. *Escherichia coli, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae)* hervorgerufen sind, hat sich das Verfahren recht gut bewährt. Dagegen kommt es bei Blutuntersuchungen häufig zu positiven Reaktionsausfällen, ohne daß sich eine Sepsis mit gram-negativen Erregern verifizieren läßt. Inzwischen gibt es kommerzielle Varianten des Limulus-Testes, die einfacher anzuwenden sind und deshalb heute meist eingesetzt werden.

2.3.4 Molekularbiologische Verfahren in der mikrobiologischen Diagnostik

logischen Nachweisverfahren gegeben werden. In der Tabelle 2.6 sind die Ersatzmöglichkeiten molekularbiologischer Verfahren in der mikrobiologischen Diagnostik zusammengefaßt.

Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuren

Nukleinsäurenachweisverfahren weisen eine hohe Spezifität und meist auch eine hohe bis sehr hohe Sensitivität auf. Dies erlaubt es in vielen Fällen, Mikroorganismen direkt aus klinischem Untersuchungsmaterial nachzuweisen, ohne daß eine vorherige Erregeranzucht notwendig wird. Dabei können auch solche Mikroorganismen erfaßt und quantitativ bestimmt werden, die entweder nicht oder nur mit unverhältnismäßig großem Aufwand kultivierbar sind

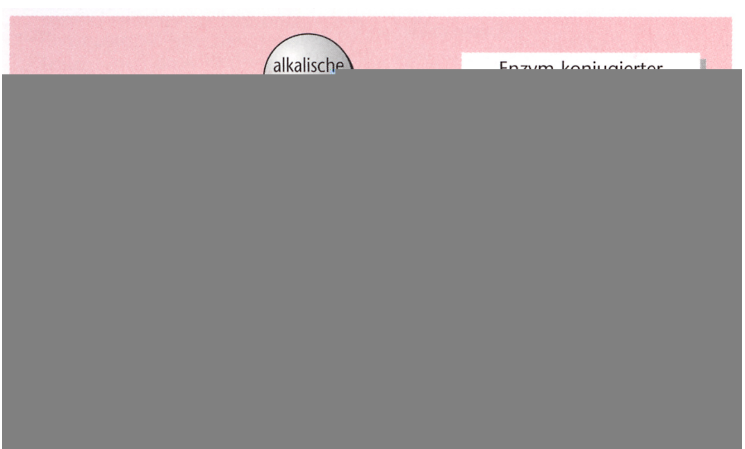
chen, die ohne In-vitro-Amplifikationsschritt auskommen, unterscheiden.

Nachweis von erregerspezifischen Nukleinsäuren ohne in-vitro-Amplifikationsschritt

Der direkte Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuren im Probenmaterial durch Anfärbung bzw. Anreicherung und die nachfolgende gelelektrophoretische Auftrennung hat nur in Ausnahmefällen praktische Bedeutung. So kann beispielsweise die im Stuhl Infizierter in großen Mengen vorhandene Rotavirus-spezifische doppelsträngige RNA nach Aufreinigung und Gelelektrophorese direkt dargestellt und anhand ihrer Wanderungseigenschaften (fragmentiertes Genom, vergleiche auch Kap. 6.10 über Rotaviren) identifiziert werden. Ganz überwiegend werden jedoch zum Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuren **Gensonden** (sog. *Gensondenanalytik)* eingesetzt. Hierbei wird die Eigenschaft von Nukleinsäuren ausgenützt, sich aufgrund der Ausbildung einer spezifischen Basenpaarung unter geeigneten experimentellen Bedingungen reversibel an für sie komplementäre Nukleinsäuresequenzen zu binden. Diesen Vorgang bezeichnet man als **Hybridisierung** (Abb. 2.26).

Gensonden können durch Klonierung von Erregernukleinsäurefragmenten oder in Form synthetischer Oligonukleotide erhalten werden. Da die meisten Erreger neben konservierten, spezies- bzw. genusspezifischen Nukleinsäuresequenzen auch über variable Genomabschnitte verfügen, kann durch die Wahl geeigneter Gensonden festgelegt werden, ob die Nachweisgenauigkeit bis zur Genus-, Spezies- oder Erre-

Vor Durchführung der eigentlichen Hybridisierungsreaktion wird in den meisten Fällen ein Aufschluß des Probenmaterials mit schonender Freisetzung und anschließender Extraktion der gesuchten Nukleinsäuren notwendig sein. Die nachzuweisende Erregersequenz wird hierbei als **Zielsequenz** bezeichnet. Handelt es sich bei der Zielsequenz um doppelsträngige DNA oder RNA, so müssen die im Probenmaterial vorliegenden Nukleinsäurestränge zunächst durch thermische oder alkalische Denaturierung voneinander getrennt werden, um eine Anlagerung der Gensonde zu ermöglichen. Im Falle von RNA ist zudem die hohe Instabilität der Zielsequenzen durch ubiquitär vorhandene *RNAsen* bei der Wahl von Extraktionsverfahren zu berücksichtigen. Nach der Anlagerung der Gensonde an ihre Zielsequenz wird nichtgebundenes Sondenmaterial durch Auswaschen entfernt. Die Spezifität der Hybridisierungsreaktion wird maßgeblich bestimmt durch die Basenzusammensetzung und Länge der Gensonde sowie durch die Inkubationsbedingungen, insbesondere Temperatur, Salzgehalt und das Vorhandensein chaotroper Substanzen (wie Formamid) während der Hybridisierungsreaktion und dem anschließenden Auswaschen nichtgebundener Nukleinsäure. Als Maß für die während der Hybridisierung gewählten Reaktionsbedingungen wurde der Begriff **Stringenz** eingeführt. Je höher die Stringenz einer Hybridisierungsreaktion gewählt wird, desto weniger Basenfehlpaarungen zwischen Gensonde und Zielsequenz werden to-


alkalische

führung von DNA-Nachweisen mittels Gensonden keine aufwendigen technischen und organisatorischen Maßnahmen zur Kontaminationsvermeidung erfordert (vergleiche auch unten). Der Einsatz von verzweigten Gensonden (engl. *branched DNA*) in Verbindung mit weiteren Signalverstärkungsschritten und Einsatz von atypischen Basen (isoG und isoC in den Sonden) sowie Chemolumineszenzfarbstoffen erlaubt es, die Empfindlichkeit des direkten Nukleinsäure-Nachweises mittels Hybridisierungsverfahren auf ca. 100 Moleküle der Zielsequenz pro ml Probenmaterial zu steigern (Abb. 2.28, Farbtafeln, *branched DNA* Nachweisverfahren).

Nukleinsäureamplifikationstechniken (NATs)

Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Den Prototyp der Verfahren zur in-vitro-Amplifikation von Nukleinsäuresequenzen stellt die Polymerase-Kettenreaktion (engl. *polymerase chain reaction,* PCR) dar. Sie soll daher im folgenden detaillierter dargestellt werden. Die PCR läßt sich als hochsensitives Verfahren zum Nachweis spezifischer Nukleinsäureabschnitte einsetzen. Wie in Abb. 2.29a–c gezeigt, erfolgt in der PCR eine zyklische DNA-Neusynthese der Zielsequenzen in vitro mit Hilfe des Enzyms DNA-Polymerase, eines Paares synthetischer DNA-Oligonukleotide, die als Startermoleküle (engl. *primer)* für die Enzymreaktion dienen, und der vier Desoxyribonukleosidtriphosphate.

Die gewöhnlich in der PCR eingesetzten DNA-Polymerasen sind DNA-abhängige DNA-Poly-

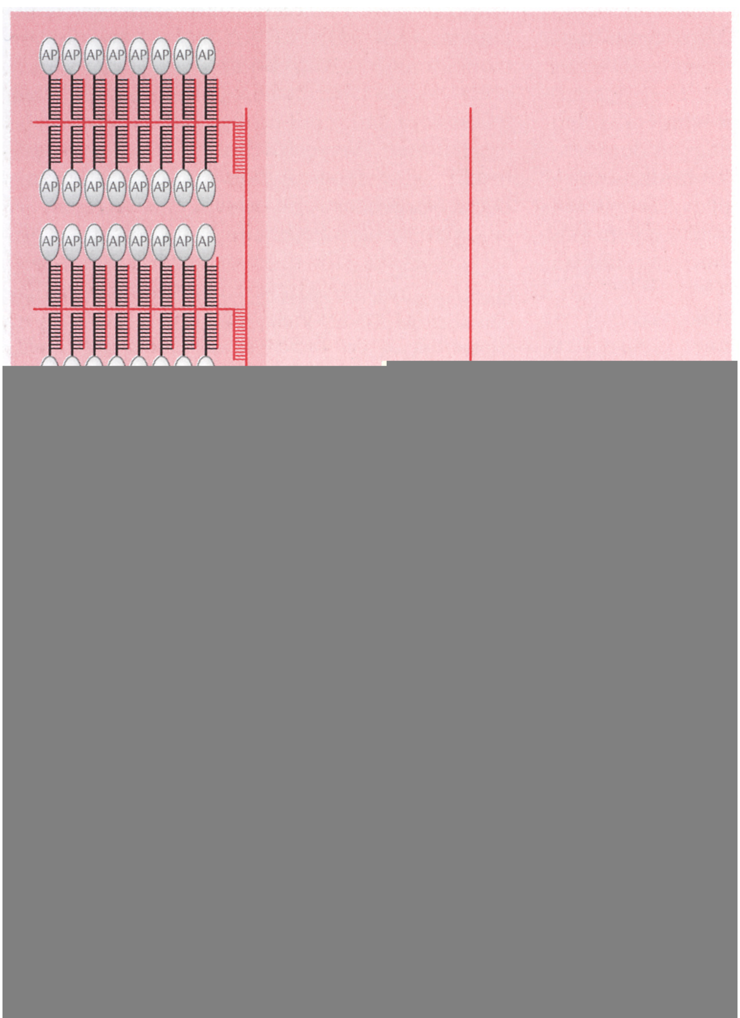


Abb. 2.28 Nukleinsäurenachweis und Signalamplifikation mittels b (branched) DNA-Technik. In der rechten Hälfte der Abbildung sind die Einzelkomponenten des Verfahrens schematisch dargestellt, die linke Hälfte der Abbildung zeigt das vollständige Nachweissystem. Zielsequenz und an die Zielsequenz bindende Anteile der Fangsonden sind rot dargestellt; Sonden, die für die Bindung an die Festphase benötigt werden, Vorverstärker, bDNA- und Detektionssonden sind schwarz dargestellt. AP: Alkalische Phosphatase.

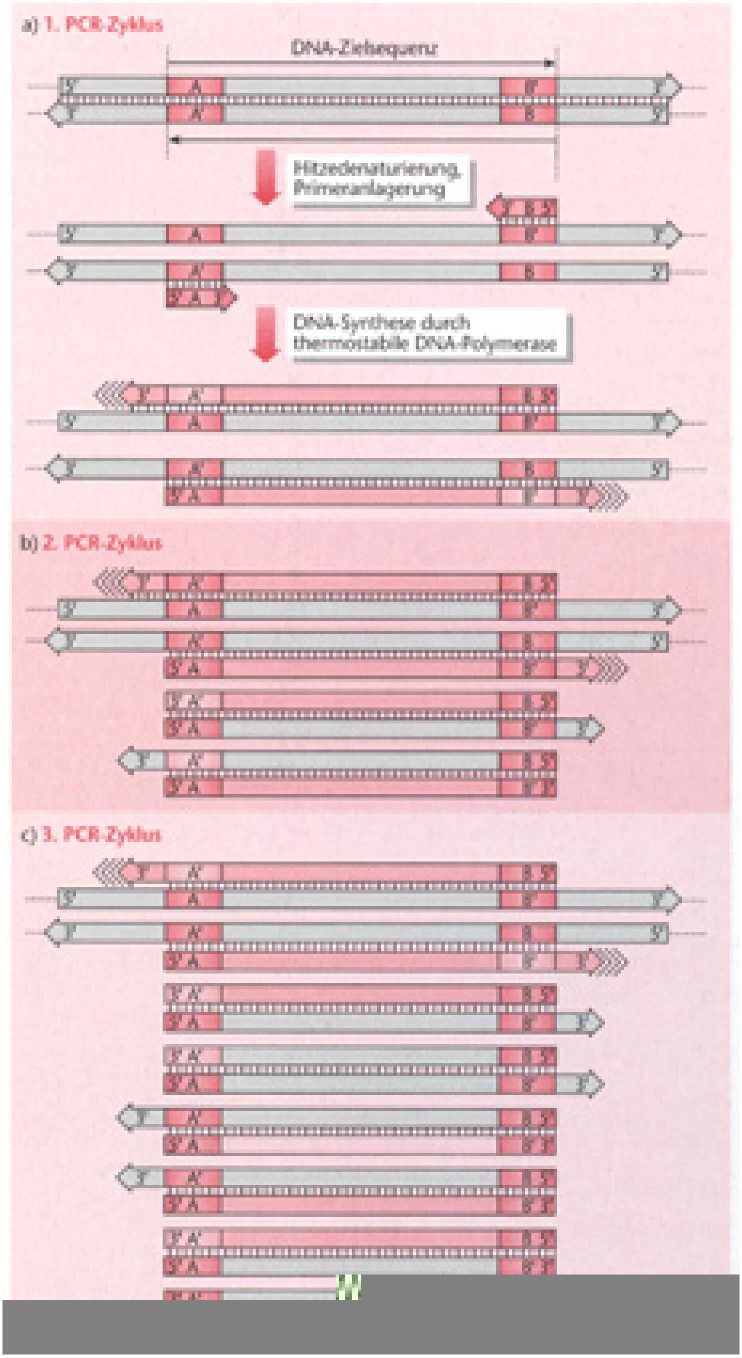


Abb. 2.29a–c *In-vitro*-Amplifikation von DNA-Sequenzen mittels Polymerase-Kettenreaktion. a) zeigt die während des ersten PCR-Zyklus ablaufenden Reaktionsschritte, in b) und c) ist das exponentielle Anwachsen von PCR-Produkten während der ersten PCR-Zyklen dargestellt. Die im jeweiligen Zyklus neu synthetisierten PCR-Produkte sind rot markiert.

merasen, d.h. sie akzeptieren als Gegenstrang des neu zu synthetisierenden DNA-Stranges lediglich DNA. Viele virale Erreger besitzen jedoch ausschließlich RNA als genetisches Material. Sollen virale oder andere RNA-Sequenzen in der PCR vervielfältigt werden, müssen diese zunächst in einem Prozeß, der als **reverse Transkription** bezeichnet wird, in komplementäre

DNA-Stränge (engl. *c*-DNA = *copy*) umgeschrieben werden. Erst dann kann eine In-vitro-Vervielfältigung dieser Nukleinsäuresequenzen in der PCR erfolgen. Zur reversen Transkription bedient man sich entweder einer retroviralen *reversen Transkriptase* (RT, RNA-abhängige DNA-Polymerase) oder nutzt die RT-Aktivität einiger thermostabiler DNA-Polymerasen, die auch zur DNA-Vervielfältigung in der PCR eingesetzt werden (vergleiche auch Abb. 2.30).
Die Sequenzen beider PCR-Primer werden so gewählt, daß sie jeweils komplementär zu gegenüberliegenden Nukleinsäuresträngen der Zielsequenz sind, daß sie den in der PCR zu vervielfältigenden Bereich flankieren und daß die Richtung der durch die DNA-Polymerase neu synthetisierten DNA-Moleküle gegenläufig ist. Der Einsatz der PCR in der Diagnostik setzt daher in der Regel voraus, daß zumindest die Nukleinsäuresequenzen der Primerbindungsstellen bekannt sind. Bis zu einem gewissen Maß können Sequenzvariationen der Primerbindungsstelle jedoch durch den Einsatz sogenannter degenerierter Primer, d.h. von Primern, die an einigen Positionen zufällige Basenfolgen enthalten, ausgeglichen werden.

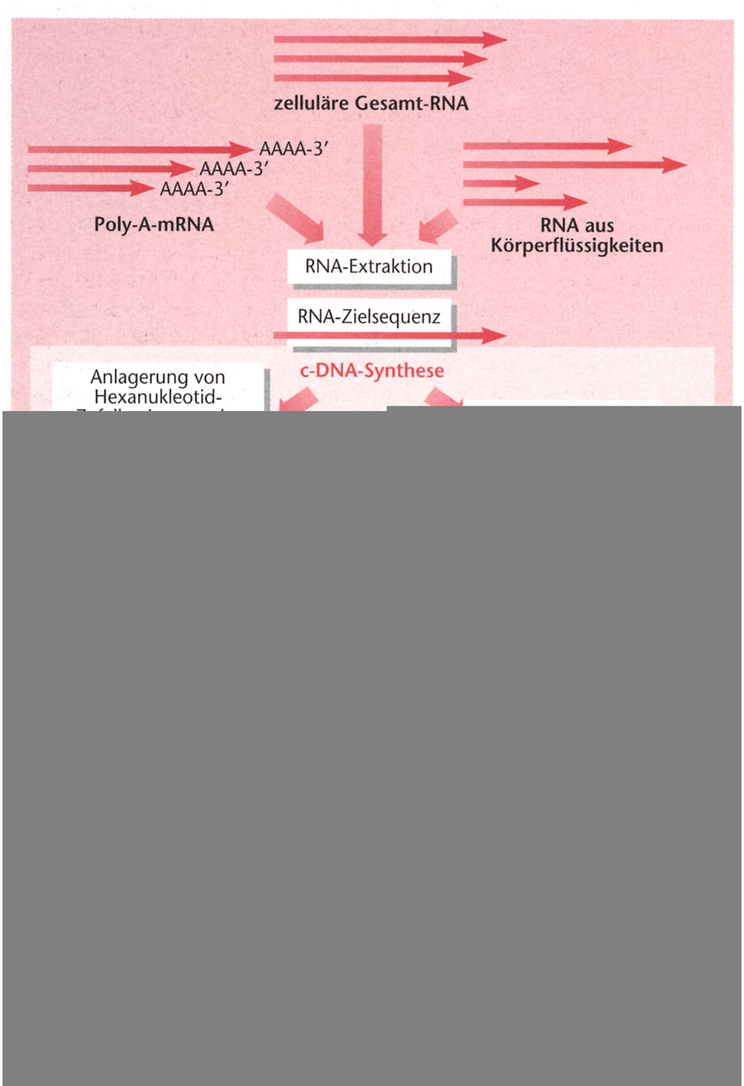


Abb. 2.30 Amplifikation von RNA-Zielsequenzen mittels RT-PCR. RNA-Sequenzen sind rot, DNA-Sequenzen schwarz dargestellt; **RT** Reverse Transkriptase; **cDNA** zu der RNA-Zielsequenz komplementäre *copy* DNA.

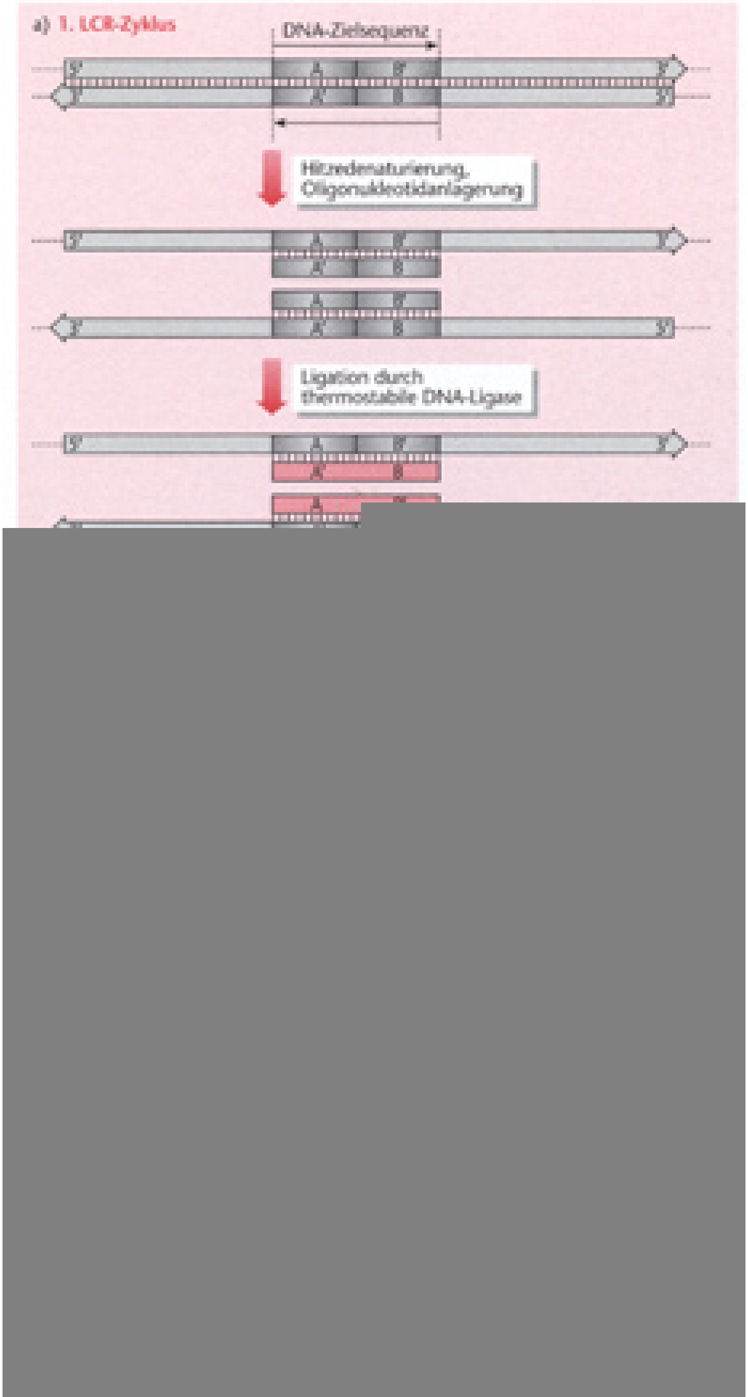


Abb. 2.32a–c *In-vitro-*Amplifikation von DNA-Sequenzen mittels Ligase-Kettenreaktion. a) zeigt die während des ersten LCR-Zyklus ablaufenden Reaktionsschritte, in b) und c) ist das exponentielle Anwachsen von LCR-Produkten während der ersten LCR-Zyklen dargestellt. Die im jeweiligen Zyklus ligierten Produkte sind rot markiert.

res Verfahren zur in-vitro-Vervielfältigung von Nukleinsäuresequenzen, das sich zum Nachweis von erregerspezifischen Nukleinsäuren nutzen läßt. Abb. 2.32a–c zeigt schematisch das methodische Prinzip der LCR.

Wie bei der PCR läuft die Reaktion zyklisch ab, wobei im ersten Teil des LCR-Zyklus eine thermische Denaturierung der Nukleinsäuresequenzen stattfindet und im zweiten Teil des Zyklus sich zur Zielsequenz komplementäre Oligonukleotide anlagern. Im Gegensatz zur PCR erfolgt jedoch im dritten Teil des Zyklus in der LCR normalerweise keine Neusynthese von DNA, sondern es werden die spezifisch an die Zielsequenz hybridisierten Oligonukleotide durch eine *thermostabile DNA-Ligase* miteinander kovalent verknüpft.
Jede LCR-Reaktion enthält vier Oligonukleotide, von denen jeweils zwei sich nebeneinander und lückenlos an die beiden Nukleinsäurestränge der Zielsequenz anlagern. Unter den in der LCR gewählten Bedingungen schließt die thermostabile DNA-Ligase ausschließlich Einzelstrangbrüche in DNA-Doppelsträngen, d.h. katalysiert die Verknüpfung von 5´-Phosphatresten mit den 3´-OH-Enden aneinandergrenzender, spezifisch hybridisierter Oligonukleotide. Aus der Ligationsreaktion mit vier Oligonukleotiden resultieren zwei Ligationsprodukte, die der Zielsequenz entsprechen und wiederum als Gegenstrang für weitere Ligationsreaktionen dienen können, wodurch es zu einer exponentiellen Vermehrung der spezifischen Ligationsprodukte kommt.
Die Spezifität der Reaktion wird dadurch sichergestellt, daß unter den gewählten Bedingungen keine Ligation freier oder fehlgepaarter Oligonukleotide stattfindet. Der Einsatz einer thermostabilen DNA-Ligase erlaubt zudem die Ligation unter Temperaturbedingungen, die die unspezifische Anlagerung von Oligonukleotiden verhindert. Der Nachweis der Ligationsprodukte der LCR kann über gängige molekularbiologische Verfahren erfolgen, meist wird jeweils ein Oligonukleotid Hapten- (z.B. Biotin-) markiert, während dessen Ligationspartner z.B. mit einem Fluoreszenzfarbstoff konjugiert wird. In diesem Fall erlaubt die Bestimmung der Menge des über das Hapten an die Oberfläche einer Festphase gebundenen Fluoreszenzfarbstoff-markierten Ligationsprodukts die Beurteilung der Reaktion.
Wie bereits bei der PCR beschrieben, besteht auch bei der LCR die Gefahr von falsch-positiven Ergebnissen durch Kontamination des Probenmaterials mit verschleppten Ligationsprodukten aus vorhergehenden Reaktionen, so daß auch bei der LCR entsprechende Maßnahmen zur Kontaminationsverhütung zu ergreifen sind. Da zur Erzielung eines positiven Ergebnisses in der LCR die perfekte Basenpaarung zwischen Oligonukleotiden und Zielsequenz im Bereich des zu ligierenden Bereichs erforderlich ist, ist die LCR ein geeignetes Verfahren **zum Nachweis von Punktmutationen** in der Zielsequenz.

Selbsterhaltende isothermische Sequenzreplikation. Neben den durch zyklische Temperaturveränderungen charakterisierten in-vitro-Vervielfältigungstechniken wie PCR und LCR wurden auch Methoden entwickelt, die eine kontinuierliche, isothermische in-vitro-Vervielfältigung von Nukleinsäuren erlauben. Von diesen Ansätzen haben derzeit lediglich die von ihrem Aufbau her sehr ähnlichen und als **NASBA** (Abkürzung steht für engl. *nucleic acid sequence based amplification)*, **3SR** (Abkürzung steht für engl. *self-sustained sequence replication)* und **TMA** (Abkürzung steht für engl. *transcription-mediated amplification)* bezeichnete Verfahren praktische Bedeutung erlangt.
Das Methodenprinzip der NASBA ist in Abb. 2.33 schematisch dargestellt. Die NASBA arbeitet mit einem komplexen Reaktionsgemisch, das neben den für die RNA- und DNA-Synthese benötigten Nukleosid- und Desoxynukleosidtriphosphaten und Kationen zwei Zielsequenz-spezifische DNA-Oligonukleotidprimer sowie die Enzyme *reverse Transkriptase* (RT), *RNase H* und *DNA-abhängige RNA-Polymerase* enthält. Ausgehend von einer RNA- oder auch DNA-Zielsequenz erfolgt zunächst in einer nichtzyklischen Phase über einen Primer (Primer 1), der zusätzlich an seinem 3´-Ende eine RNA-Polymerase-Promotorsequenz (z.B. der DNA-abhängigen RNA-Polymerase des Bakteriophagen T7, *T7-RNA-Polymerase)* trägt, die Neusynthese eines Gegenstranges mit Hilfe der RT. Die RT erzeugt hierbei an RNA-Zielsequenzen einen cDNA-Strang, kann aber auch einen komplementären DNA-Strang an DNA-Zielsequenzen synthetisieren. Im nächsten Schritt erfolgt bei RNA-Zielsequenzen der Abbau der RNA-Zielsequenz der *RNA:cDNA-Hybridmoleküle* über das Enzym RNase H. DNA-Doppelstränge, die aus einer DNA-Zielsequenz resultieren, müssen durch Denaturierung voneinander getrennt werden. Anschließend kann sich der zweite Primer (Primer 2) anlagern und es kommt zur Synthese eines DNA-Doppelstranges durch die RT. Hierbei entsteht am 3´-Ende des ersten Primers ein funktioneller Promotor für die RNA-Polymerase, die zahlreiche Kopien eines zur Zielsequenz komplementären RNA-Stranges (*RNA-Minusstrang* (–)) erzeugt. Diese RNA-Moleküle dienen nun in der zweiten, zyklischen Phase der NASBA als Zielsequenz für Primer 2, nach dessen Bindung die *RT* einen komplementären DNA-Strang (*cDNA-Plusstrang* (+)) synthetisiert. Nach Verdauung der RNA-Anteile des RNA(–):cDNA(+)-Hybridmoleküls durch die RNase H katalysiert nach Bindung von Primer 2 die RT die DNA-Gegenstrangsynthese und elongiert den cDNA (+)-Strang, so daß wiederum ein funktioneller RNA-Promotor entsteht. Mit der Neusynthese von zahlreichen RNA (–)-Molekülen schließt sich der Kreislauf, der letztendlich zur massiven Synthese der Zielsequenz führt.
Der Nachweis der in vitro vervielfältigten Nukleinsäuresequenzen, die ein Gemisch aus RNA(–)- und in geringerem Umfang vertretenen DNA-Sequenzen darstellen, erfolgt wiederum über gängige molekularbiologische Verfahren. Aufgrund ihres Aufbaues eignet sich die NASBA insbesondere zum Nachweis von Einzelstrang-RNA-Zielsequenzen. Ihre Nachteile sind vor allem in ihrem aufwendigen Protokoll begründet, das, um erfolgreich durchgeführt werden zu können, ganz erheblichen, auf die jeweilige Fragestellung bezogenen Optimierungsbedarf beinhaltet, so daß derzeit nur eine begrenzte Anzahl von NASBA-Protokollen zum Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuren zur Verfügung steht.

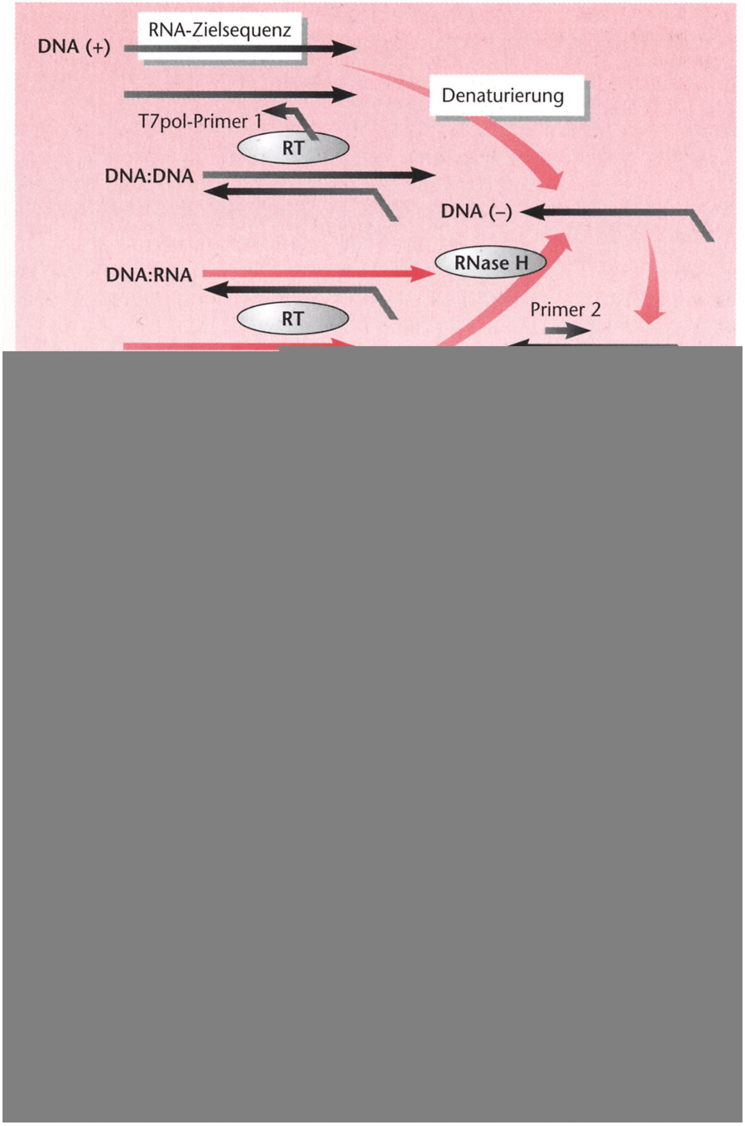


Abb. 2.33 Isothermische Nukleinsäureamplifikation mittels NASBA (Nucleic Acid Based Sequence Amplification). DNA-Sequenzen sind schwarz, RNA-Sequenzen rot dargestellt; die jeweiligen Reaktionswege sind durch rote Pfeile markiert, die daran beteiligten Enzyme sind unterlegt. **RT**: Reverse Transkriptase.

Charakterisierung erregerspezifischer Nukleinsäuren

Neben dem alleinigen Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuren, der lediglich Aussagen über die Präsenz, die Anzahl und ggf. auch die transkriptionelle Aktivität von Erregern im Untersuchungsmaterial erlaubt, kommt der weitergehenden Charakterisierung von erregerspezifischen Nukleinsäuren eine zunehmende diagnostische Bedeutung zu. Hierbei lassen sich anhand der Sequenz der entweder unmittelbar aus Probenmaterial oder (in den meist Fällen) nach einem vorgeschalteten in-vitro-Amplifikations- oder Kulturschritt gewonnenen Nukleinsäuren eine Reihe von weitergehenden Aussagen erhalten (zusammengefaßt in Tab. 2.6). Zu nennen sind an dieser Stelle insbesondere die Identifizierung und Bestimmung verschiedener Spezies bzw. Typen einer Erregergruppe oder -familie, die Erfassung von Varianten einer Erregerspezies bzw. eines Erregertyps und der Nachweis von Sequenzvariationen innerhalb eines Erregerstammes.

zung der Erkennungssequenz das Vorkommen von Schnittstellen in erregerspezifischen Nukleinsäuren.
Zur Analyse langer DNA-Abschnitte bzw. gesamter Erregergenome mittels Restriktionsendonukleasen (sog. **Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus, RFLP)** eignen sich daher bevorzugt solche Restriktionsenzyme, die lange und verhältnismäßig seltene Erkennungssequenzen aufweisen (engl. *rare cutters),* wohingegen zur Analyse kurzer DNA-Abschnitte, z.B. von PCR-Produkten, Restriktionsendonukleasen mit häufig vorkommenden Erkennungssequenzen eingesetzt werden. Abhängig von der Größe der Spaltprodukte werden unterschiedliche elektrophoretische Auftrennungsverfahren verwendet. Für die zuverlässige Auftrennung sehr großer DNA-Fragmente wird typischerweise die sog. **Pulsfeldgelelektrophorese** eingesetzt. Die Auftrennung kurzer DNA-Fragmente kann dagegen in einem konstanten Spannungsfeld mittels konventioneller Agarose- oder Acrylamidgelelektrophorese erfolgen.
Ein weiteres Verfahren zur Charakterisierung von erregerspezifischen Nukleinsäuren sind die bereits oben beschriebenen Techniken der Hybridisierung mit Gensonden. Im Kontext der Nukleinsäurecharakterisierung lassen sich Sonden beispielsweise zur Identifizierung von Erregervarianten einsetzen, indem zunächst eine in-vitro-Vervielfältigung von erregerspezifischen Nukleinsäuren mittels konservierter Primer in der PCR erfolgt und in einem nachfolgenden Schritt das PCR-Produkt mittels variantenspezifischer Gensonden analysiert wird. Indirekte Informationen über die Sequenz von Nukleinsäurefragmenten lassen sich auch durch Analyse ihres Schmelzverhaltens und ihrer Sekundärstruktur in denaturierenden Gelelektrophorese-

z.B. Vergleiche mit bereits veröffentlichten Sequenzdaten durch Zugriff auf elektronische Datenbanken und die Erstellung von Stammbaumanalysen, Aussagen über Mutationen und deren Effekte auf den Phänotyp (z.B. Chemotherapeutikaresistenzen) etc.

Eine interessante Neuentwicklung in der Nukleinsäureanalytik stellen Techniken dar, welche die gleichzeitige Testung eines Nukleinsäuregemisches auf seine Reaktion mit einer Vielzahl verschiedener Gensonden ermöglichen. Die sog. **Gen-Chip-Technik** ist ein typisches Beispiel dieses methodischen Ansatzes und basiert auf einer Kombination der für die Mikroelektronik entwickelten Siliziumchip-Technologie und der oben beschriebenen Gensonden-Technologie, indem mittels photolithographischer Verfahren und kombinatorischer Nukleinsäurechemie in miniaturisierter Form Gensonden auf Siliziumchips synthetisiert werden.
Die Gen-Chip-Technik ermöglicht die gleichzeitige Testung eines Nukleinsäuregemisches auf seine Reaktion mit zehntausenden definierter, synthetischer Gensonden. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt auf mikrooptischem Weg. Die Stärke diese Verfahrens liegt darin begründet, daß es eine Vielzahl von Parametern gleichzeitig zu erfassen und zu quantifizieren vermag. Hierdurch werden Aussagen über komplexe Regulationsvorgänge ermöglicht, die einer Analyse bislang nicht zugänglich waren. Die Interpretation der riesigen Datenmengen, die dieses Verfahren liefert, stellt jedoch hohe Anforderung an Computer-gestützte Auswertungsprogramme. Derzeit wird dieses Verfahren eingesetzt, um Aussagen über die zelluläre Transkriptionsaktivität und somit die Genregulation zu erhalten *(parallele Genexpressionsdetektion*). Weitere Anwendungen der Gen-Chip-Technologie bestehen in der Mutationsanalyse und der Sequenzierung von Nukleinsäuren, beispielsweise um Aussagen über mögliche Resistenzentwicklungen viraler Erreger zu erhalten (vgl. auch HIV und HCV), sowie in der raschen und spezifischen Detektion von Krankheitserregern im stark mikrobenbeladenen Materialien (z.B. Lebensmitteln) und der zuverlässigen Identifizierung



Abb. 2.35 DNA-Doppelstrangsequenzierung mittels Didesoxynukleotid-Kettenabbruchverfahren. Die zu bestimmende DNA-Sequenz ist dunkelrot dargestellt, der für die Sequenzierungsreaktion eingesetzte Primer hellrot; **dNTPs**: Gemisch aus allen 4 Desoxynukleotidtriphosphaten, **ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP**: Didesoxynukleotidtriphosphate. Wird ein Didesoxynukleotid bei der DNA-Synthese eingebaut, erfolgt Kettenabbruch. Im unteren Teil der Abbildung sind die durch Kettenabbruch jeweils resultierenden Syntheseprodukte der Sequenzierungsreaktion und ihr Wanderungsverhalten bei elektrophoretischer Auftrennung sowie die hieraus abzulesende DNA-Sequenz dargestellt.

küle, die in Bakterienzellen extrachromosomal vorliegen und einen Replikationsursprung aufweisen, welcher für die Plasmidreplikation in der Bakterienzelle benötigt wird. Typischerweise tragen sie zudem ein Antibiotikaresistenzgen, das die in-vitro-Selektion plasmidhaltiger Bakterien erlaubt, sowie an geeigneter Stelle Erkennungssequenzen einer Reihe von Restriktionsendonukleasen, die nach Restriktionsendonukleaseschnitt die Aufnahme von Fremd-DNA-Molekülen mit geeigneten (sog. *kompatiblen)* DNA-Enden erlauben.

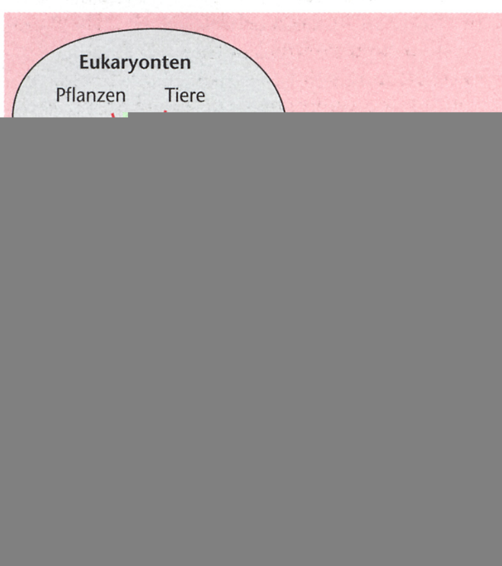
Die mit großem Abstand am häufigsten eingesetzten Wirtszellen zur Aufnahme und Vermehrung rekombinanter Plasmide sind Laborstämme von *Escherichia coli*, die bestimmte Sicherheitskriterien, wie z.B. fehlende Pathogenität und Rekombinationsaktivität, erfüllen müssen. Zur Aufnahme von Fremd-DNA-Sequenzen, z.B. aus aufgereinigten Erregern, aber auch von Produkten aus in-vitro-Vervielfältigungsreaktionen, wird typischerweise gereinigte, zirkuläre Plasmid-DNA mittels Restriktionsendonukleasen linearisiert, mit der aufzunehmenden Fremd-DNA, die kompatible DNA-Enden aufweisen muß (s. Abb. 2.34a), gemischt und die DNA-Stränge mit Hilfe des Enzyms DNA-Ligase wieder verknüpft. Nach Aufnahme des Ligationsproduktes aus Plasmid-DNA und zu klonierender Fremd-DNA durch *E. coli*-Zellen (sog. Trans-

3.1 Aufbau und Morphologie der Bakterienzelle

HANS-GEORG SAHL

Die genannten Pilze, Algen und Protozoen werden auch als **höhere Protisten** zusammengefaßt, denn sie besitzen

- von Membranen umgebene Organellen



ein vielgestaltiges (pleomorphes) Aussehen in Form von veränderlichen, bläschenförmigen Gebilden.

Abweichungen von der typischen Gestalt
Aufgetriebene Formen, einseitige Anschwellungen, Fadenform, unterschiedliche Anfärbbarkeit entstehen durch degenerative Veränderungen. Sie werden durch äußere Einflüsse hervorgerufen und können z.B. durch Einwirkung von Chemotherapeutika zustande kommen. Dies muß bei der Beurteilung von Originalpräparaten beachtet werden.

Größe der Bakterien
Die Länge vieler Bakterien liegt im Bereich von 0,5 bis 5 μm (1 μm = 10^{-6} m). Die Dicke liegt meist unter 1 μm. Kokken haben einen Durchmesser von etwa 1 μm (Hefezellen sind größer und haben einen Durchmesser von 3–5 μm). Das zur normalen Dickdarmflora gehörende Bakterium *Escherichia coli* hat eine Länge von 1–3 μm und eine Dicke von 0,5 μm. Milzbrandbazillen sind 3–10 μm lang und 1–1,3 μm dick. Spirochäten sind 10–20 μm lang (Erythrozyten-Durchmesser 7,5 μm), aber sehr zart (Dicke etwa 0,1 μm). Infolge ihrer geringen Dicke sind Spirochäten lebend im Hellfeldmikroskop nicht mehr darzustellen. Hierfür muß das Dunkelfeldmikroskop herangezogen werden. Fadenförmige Bakterien, z.B. der Gattung *Actinomyces*, können erheblich länger als Spirochäten sein. Pilzfäden unterscheiden sich von den fadenförmigen Bakterien durch ihre wesentlich größere Dicke (2–10 μm).
Allgemein schwankt die Größe der Einzelzellen stark mit dem physiologischen Zustand, (z.B. während der Wachstumsphase). Außerdem sind lebende Zellen größer als gefärbte, da Fixierung und Färbung zu starken Schrumpfungen führen.

Die Anatomie der Bakterienzelle

Eine Bakterienzelle (Abb. 3.3) besteht aus
- einer relativ starren Zellwand
- der Zytoplasmamembran
- dem Zytoplasma
- dem Kernäquivalent.

Fakultativ gehören zum Bauplan
- das Vorhandensein von Kapseln
- Geißeln
- Fimbrien (Pili)
- Sporen (Gattung *Bacillus* und *Clostridium*).

Das Kernäquivalent (Nukleoid)

Das Nukleoid enthält die Erbinformation (Genom). Es besteht aus einem in der Regel ringförmig geschlossenen DNA-Molekül (dem sogenannten Bakterienchromosom), das in stark gefalteter und verdrillter Form ohne Abgrenzung durch eine Kernmembran frei im Zytoplasma liegt (Abb. 3.3, 3.4).

Es besteht je nach Bakterienart aus 0,5 bis 10 Millionen Nukleotidpaaren. Eine nähere Beschreibung findet sich in Kap. 3.3.2. Das Chromosom liegt meist in mehreren Kopien vor (z.B. 2–4 bei *E. coli*).
Außer dem Bakterienchromosom können im Zytoplasma von Bakterienzellen noch meist ringförmig geschlossene, kleinere DNA-Moleküle vorkommen, die etwa 2000 bis 200 000 Nukleotidpaare groß sind (2 bis 200 kb); zur Größenbeschreibung von DNA hat sich der Begriff **Kilobasen (kb)** eingebürgert, wobei 1 kb 1000 Basen-(Nukleotid)paaren entspricht. Diese **Plasmide** genannten DNA-Moleküle liegen meist in viel höherer Kopienzahl vor (bis zu 100 pro Zelle).
Das Nukleoid wird bei den gängigen Färbeverfahren für Bakterien (z.B. nach Gramfärbung) optisch nicht hervorgehoben. Dies erreicht man jedoch durch Spezialfärbung z.B. nach GIEMSA, bei der ein basischer Farbstoff verwendet wird, der mit Nukleinsäuren reagiert. Im elektronenmikroskopischen Bild hebt sich das Nukleoid in der Regel als heller, weniger dichter Bereich vom Zytoplasma ab (Abb. 3.4).

Zytoplasma
Das von der Zytoplasmamembran umschlossene Zytoplasma enthält in Wasser gelöst Salze, Enzyme, Ribosomen und Strukturproteine, Stoffwechselintermediärprodukte und Ribonukleinsäuren (RNA); das Wasser macht etwa 80% des Zellgewichtes aus. Die RNA kommt in mindestens drei Arten vor (mRNA, rRNA,

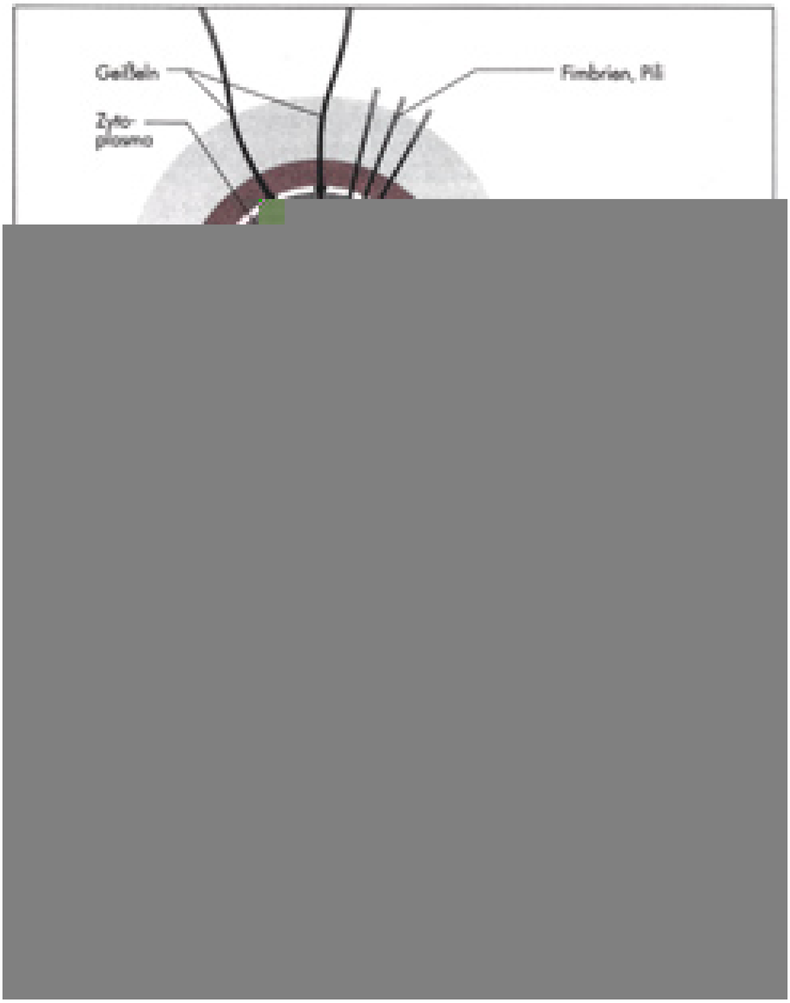

Geißeln
Zyto-
plasma
Fimbrien, Pili



Abb. 3.4 Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Ultradünnschnitts einer Zelle von *Listeria monocytogenes* im Stadium der Zellteilung. Elektronenmikroskop-Vergrößerung 70.000:1. Die dreischichtige zytoplasmatische Membran, der nach außen die Zellwand aufliegt, ist sichtbar (s. Abb. 3.5). Die weniger kontrastierten, unscharf begrenzten Bereiche sind Nukleoide mit fädiger DNA-Struktur, die unmittelbar ohne Begrenzung durch eine Membran im Zytoplasma liegen. Im Bereich der Ausbildung des Querseptums ein Mesosom (Aufnahme W. Lenz).

(der Namen leitet sich von *Spirillum volutans* her, wo diese Granula ebenfalls vorkommen), die aus Polyphosphaten bestehen.

Zytoplasmamembran

Die zytoplasmatische Membran ist als Ort wichtiger Stoffwechselvorgänge für die Lebensfähigkeit der Zelle von entscheidender Bedeutung.

Sie besitzt eine Dicke von 6–8 nm und begrenzt das Zytoplasma. Sie zeigt im fixierten und kon-

pide sind in Form einer Doppelschicht gelagert, wobei die hydrophilen Kopfgruppen jeweils nach außen zu den wässrigen Phasen innerhalb und außerhalb der Zelle zeigen, während die hydrophoben Fettsäureketten nach innen liegen und eine wasserundurchlässige Schicht bilden. In die Doppelschicht sind eine Vielzahl von Proteinen eingelagert, welche die Membran ganz durchkreuzen können (integrale Membranproteine) oder sich nur an einer Seite befinden (periphere Membranproteine). Sterole fehlen im Gegensatz zu den Pilzen in der Membran der Bakterien (mit Ausnahme von Mykoplasmen). Die Polyen-Antimykotika, wie Nystatin und Amphotericin, die sich an Sterole binden, haben daher keinen Angriffspunkt bei Bakterien. Als funktionsanaloge Substanzen zu den Sterolen kommen bei Bakterien Hopanoide vor.
Ohne eine intakte Zytoplasmamembran ist eine Bakterienzelle nicht lebensfähig. Sie erfüllt **essentielle Funktionen:**

- als **Permeabilitätsbarriere,** die die Akkumulation von Nährstoffen, Metaboliten etc. ermöglicht;



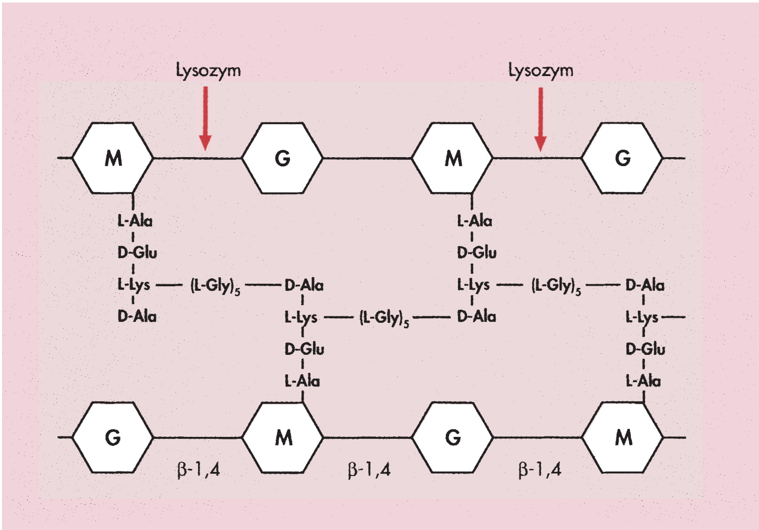


Abb. 3.7 Struktur des Mureins von *Staphylococcus aureus*. Zwei Glykanstränge, bestehend aus N-Acetylglukosamin **(G)** und N-Acetyl-Muraminsäure **(M)** sind durch Peptidbrücken quervernetzt. Die Spaltstellen des Zellwand-hydrolysierenden Enzyms Lysozym sind eingezeichnet. Weitere Erläuterungen im Text.

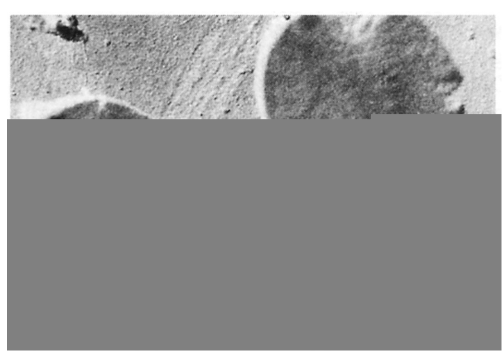
einschließt (Murein-Sacculus, Abb.3.8). Es gibt der Zelle ihre Form und wirkt als Exoskelett, das die fluide Membran in osmotisch nicht stabilisiertem Milieu vor dem Zerplatzen schützt.
An dem Aufbau des Glykans sind zwei Aminozucker beteiligt, das N-Acetylglucosamin und die N-Acetylmuraminsäure (Abb. 3.7), die sich alternierend über eine β-1,4-Bindung zu langen (etwa 200 Disaccharid-Einheiten), unverzweigten Ketten anordnen. An die Carboxylgruppe jedes Muraminsäurerests ist ein Tetrapeptid gebunden, das bei vielen Bakterienarten folgende Aminosäuresequenz hat: L-Alanin, D-Glutaminsäure, *meso*-Diaminopimelinsäure (diese Aminosäure kommt nicht bei Eukaryonten vor)

Angriffsort für Antibiotika. Es ist bemerkenswert, daß die Mureinstruktur der bakteriellen Zelle nicht bei Pflanzen und Tieren anzutreffen ist.

Dies ermöglicht die Anwendung von Antibiotika (z.B. Penicilline, Cephalosporine, Vancomycin, Bacitracin).

Sie interferieren mit der Biosynthese des Peptidoglykans, ohne daß die Zellen des Makroorganismus geschädigt werden (s. weiter unten).

Zellwand der gram-positiven Bakterien
Die Zellwand der gram-positiven Bakterien, die



3

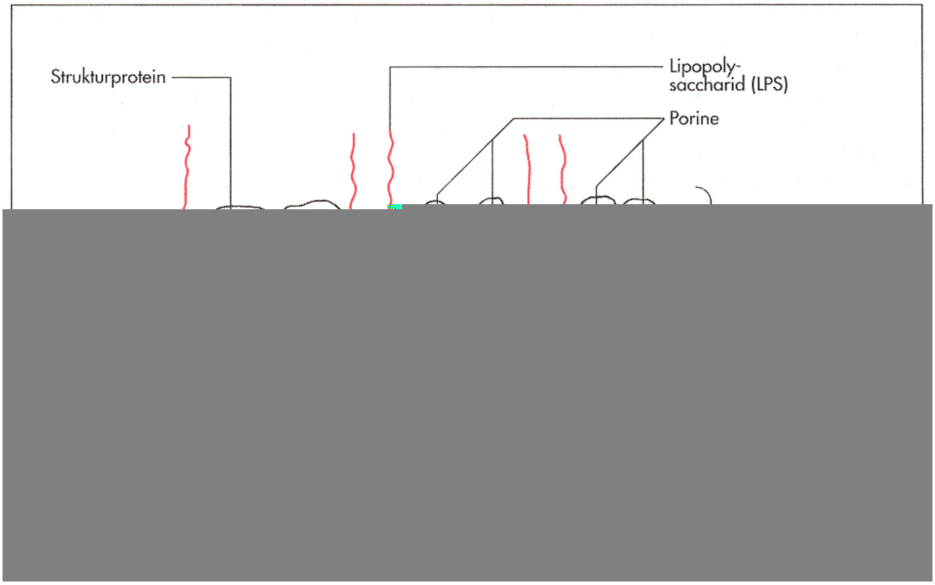


Abb. 3.9 Schematische Darstellung der Zellhülle gram-negativer Bakterien.

zu 10^5 pro Zelle) in der Außenmembran vor, während andere nur unter bestimmten Wachstumsbedingungen oder nur in wenigen Kopien vorliegen. Diese haben spezielle Funktionen in der Nährstoffaufnahme, z.B. als spezifische Maltose-Pore (LamB Protein), Phosphat-Pore (PhoE), oder als Rezeptorproteine für Komplex-gebundenes Eisen (Fe^{3+}-Chelate). Allein bei *E. coli* sind vier verschiedene Eisentransportsysteme mit spezifischen Rezeptorproteinen bekannt.
Die zuletzt genannten Proteine der äußeren Membran werden häufig von Bakterienviren (= Bakteriophagen) und Bacteriocinen (antibiotische Proteine mit engem Wirkungsspektrum) als Rezeptoren benutzt; diese mißbrauchen also existierende Aufnahmesysteme, um in die Bakterienzelle zu gelangen.

Die äußere Membran gramnegativer Bakterien hat also eine wichtige Molekularsiebfunktion; sie ist auch dafür verantwortlich, daß viele Antibiotika, die grampositive Bakterien abtöten, gegen gramnegative nicht wirksam sind, weil diese die Membran aufgrund ihrer Größe nicht penetrieren können.

Von großer medizinischer Bedeutung sind auch die **Lipopolysaccharide (LPS)** der Außenmembran, weil

- der Lipidanker (Lipid A) toxische Eigenschaften besitzt und
- der Polysaccharidanteil wichtige Antigendeterminanten enthält.

Die LPS sind mit dem Lipidanteil fest in der Lipidmatrix verankert und werden erst bei Zell-Lyse frei. Man bezeichnet sie daher als **Endotoxine** im Gegensatz zu den Exotoxinen, (z.B. Diphtherietoxin, Choleratoxin, Tetanustoxin etc.), die Proteine sind und von den Bakterien während des Wachstums produziert und aktiv sekretiert werden (zur pathogenetischen Bedeutung des Endotoxins s. Kap. 1.1.4). Das Lipopolysaccharid-Molekül (Abb. 3.10) kann man in drei Abschnitte (Regionen I–III) unterteilen: das Lipid A (Region III), das Kernpolysaccharid (Region II) und die variable Seitenkette (Region I).

Das Lipid A ist ein ungewöhnliches Phospholipid.

An ein Glukosamindisaccharid sind über die Hydroxy- und die Aminogruppen des Zuckers Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlänge verestert. Diese bilden die äußere Lipidschicht der Außenmembran. Das Lipid A ist bei allen *Enterobacteriaceae* sehr ähnlich und dadurch in seiner Toxizität vergleichbar.
An das Lipid A schließt sich die Kernzone (II) an: Sie besteht aus fünf basalen Zuckern (Keto-

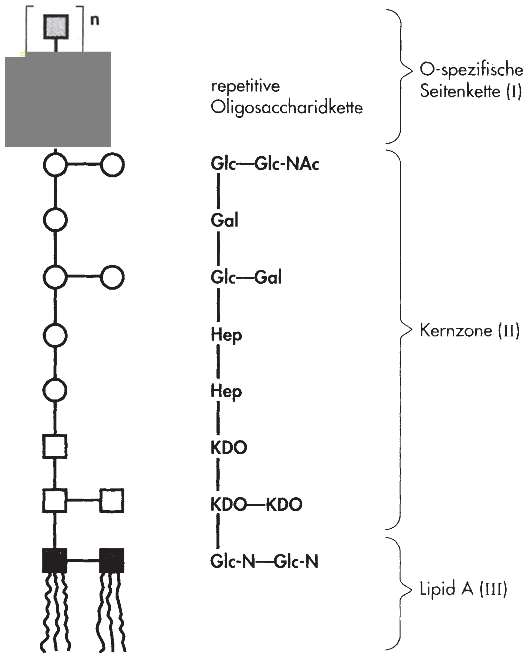


Abb. 3.10 Aufbau des Lipopolysaccharids gramnegativer Bakterien am Beispiel der Enterobakteriazeen. Glc = Glukose, Glc-NAc = N-Acetylglukosamin, Gal = Galaktose, Hep = Heptose, KDO = 2-Keto-3-desoxyoctonsäure, Glc-N = Glukosamin.

desoxyoctonat, Heptose, D-Glukose, D-Galaktose und D-Glukosamin). Die Kernpolysaccharidzusammensetzung ist bei allen Salmonellen übereinstimmend. Bei anderen Genera gramnegativer Bakterien kann sie jedoch hiervon verschieden sein.

Auf das Kernpolysaccharid folgt dann als äußere Region (I) eine Kette von sich wiederholenden Oligosaccharid-Einheiten, meist Trisacchariden. Sie kann eine große Variation in Zusammensetzung und Struktur zeigen und wird O-spezifische Seitenkette genannt. Diese O-spezifischen Seitenketten sind Bestandteile der Oberfläche der Zellwand und stellen thermostabile *antigene Determinanten* dar, die als Körper- oder **O-Antigene** bezeichnet werden. Sie rufen im Makroorganismus die Bildung von O-spezifischen Antikörpern hervor. Derartige Zuckerstrukturen können auch spezifische Anheftungspunkte (Rezeptoren) für Bakteriophagen sein.

Die Bezeichnung **O-Antigen** leitet sich ursprünglich her von Beobachtungen bei Bakterien der Gattung *Proteus*. Stark begeißelte Stämme wachsen bei Ausimpfung auf Nährböden nicht in Form von Kolonien, sondern überziehen den ganzen Nährboden mit einem zarten, **h**auchförmigen Wachstum (**H-**Form, davon abgeleitet der serologisch-diagnostisch gebrauchte Begriff **H-**(Geißel-)Antigen). Geißellose Varianten wachsen dagegen in Kolonien, d.h. **o**hne Hauch (**O-**Form, davon abgeleitet **O-**(Körper-)Antigen.

Die O-spezifische Seitenkette von *Salmonella newington* besteht z.B. aus 10–20 sich wiederholenden Trisaccharid-Einheiten (Mannose, Rhamnose und Galaktose). Infolge der großen Variationsmöglichkeit in der Zuckerzusammensetzung, ihrer Sequenz und der Art ihrer Bindung gibt es bei *E. coli*, Salmonellen und anderen gramnegativen Bakterien eine große Zahl von unterschiedlichen O-Antigenen mit verschiedener serologischer Spezifität. Auf diese Weise lassen sich innerhalb einer Art viele Serovarietäten (Serovare) unterscheiden, was für epidemiologische Fragestellungen sehr nützlich ist; darüber hinaus korreliert in manchen Fällen die Fähigkeit von Stämmen, bestimmte Pathogenitätsfaktoren auszubilden mit der Serovarietät, so daß deren Bestimmung auch direkte diagnostische Bedeutung hat; z.B. sind für die Entstehung von *Yersinia*-Enteritiden nur die Serovare O:3, O:8 und O:9 relevant.

Rauh- und Glattformen. Während Salmonellen und andere Enterobacteriaceen mit ausgebildeten O-Seitenketten des LPS mit runden, gewölbten, spiegelnden Kolonien wachsen und als *Glattformen* (oder S[smooth]-Form) bezeichnet werden, können Verlust-Mutanten auftreten, die flache, unregelmäßig begrenzte Kolonien mit gekörnter Oberfläche aufweisen. Diese Mutanten werden als *Rauhformen* (R-[rough]-Form) bezeichnet und haben die Fähigkeit, die O-spezifische Seitenketten und/oder Teile des Kernpolysaccharides zu synthetisieren, verloren. Die Rauhformen sind gegenüber Serum empfindlich und nicht mehr pathogen.

Die medizinische Bedeutung der Zellwand

Die Zellwand ist der Teil der Bakterienzelle, der mit der Außenwelt, also auch mit dem Makroorganismus, in Wechselwirkung tritt. Sie enthält **Oberflächenkomponenten,** die für die spezifische Anheftung an Epithelien verantwortlich sind. Die **antigenen Determinanten** der Zellwand rufen im Makroorganismus die Bildung von Antikörpern hervor, die zur Agglutination oder in Gegenwart von Komplement und phagozytierenden Zellen zu einer Immunphagozytose oder Zellabtötung führen.

3



Abb. 3.13 Elektronenmikroskopische Aufnahme des Ultradünnschnitts einer versporten Zelle von *Clostridium septicum*. Elektronenmikroskop-Vergrößerung 20.000:1. Spore mit mehrschichtiger Sporenhülle (Aufnahme W. LENZ).

tis von Kleinkindern besonders häufig; bei *Neisseria meningitidis* sind vor allem die Typen A, B und C virulent.

Sporen

Nur wenige Bakteriengattungen vermögen Sporen zu bilden, wobei die medizinisch relevanten alle in die Gattungen *Bacillus* (aerobe Sporenbildner) und *Clostridum* (anaerobe Sporenbildner) gehören. Sporen sind runde oder elliptische Gebilde (Abb. 3.13), die sich durch große Widerstandsfähigkeit gegen Umwelteinflüsse auszeichnen. Es sind keine Vermehrungsformen wie die Exosporen der Pilze, sondern *Dauerformen*, die der Erhaltung der Art bei ungünstigen äußeren Verhältnissen dienen.

Pro Zelle wird eine Spore ausgebildet, und zwar in der Zelle, weshalb sie genauer als *Endosporen* bezeichnet werden. Die Ausbildung einer Endospore ist ein sehr komplexer Differenzierungsprozeß. Er wird durch Nährstoffmangel induziert und beginnt damit, daß ein Teil des Zytoplasmas durch Invagination der Zytoplasmamembran von der übrigen Zelle abgeschirmt wird. In diese sogenannten Sporenprotoplasten werden ein komplettes Genom sowie alle zur Wiederauskeimung notwendigen Makromoleküle eingelagert. Außerdem wird Dipicolinsäure gebildet, die als Kalziumsalz eingelagert wird und bis zu 15% der Sporentrockenmasse ausmacht. Dipicolinsäure kommt nur in der Spore vor; ihr Gehalt korreliert mit der Hitzebeständigkeit der Spore. Die Vorspore wird von der Zytoplasmamembran vollständig umwachsen, so daß eine Spore von zwei Membranen umgeben ist. Von diesen Membranen wird eine spezielle Sporenzellwand synthetisiert. Außerdem wird von der Sporenmutterzelle noch eine Proteinhülle aufgelagert. Diese mehrschichtige Umhüllung, die etwa 50% der Trockenmasse der Sporen ausmacht, ist ebenfalls für die Widerstandsfähigkeit der Spore sehr wichtig; außerdem ist bemerkenswert, daß der Wassergehalt in der Spore auf ca. 15% reduziert wird, im Vergleich zu mehr als 80% in einer vegetativen Zelle. Wenn die Sporenbildung abgeschlossen ist, beginnt sich die Sporenmutterzelle durch Autolyse aufzulösen. Bakteriensporen behalten über lange Zeiträume die Fähigkeit zur Wiederauskeimung; über 100 Jahre alte Bodenproben enthalten noch lebensfähige Sporen.

Nachweis. Endosporen sind nur sehr schwer anfärbbar. Im mikroskopischen Präparat ungefärbter oder auch Gram-gefärbter Bakterien fallen sie jedoch sofort als stark lichtbrechende Zelleinschlußkörper auf. Ihre Lage innerhalb der Sporenmutterzelle (zentral oder polar) und ihre Größe (kleinerer oder größerer Durchmesser als die Bakterienzelle) sind arttypisch und können für die Diagnostik herangezogen werden.

Bedeutung der Sporen für die medizinische Mikrobiologie. Die Bedeutung liegt nicht nur in der Tatsache, daß einige pathogene Bakterien Sporen bilden; vielmehr ist es ihre enorme Widerstandsfähigkeit, auch nichtpathogener Arten, die die aufwendigen Sterilisationstechniken für Nährmedien und medizinische Geräte notwendig macht (s. Kap. 2.2.4) Während vegetative Zellen bei Austrocknung, durch Behandlung mit Desinfektionsmitteln in üblicher Konzentration oder durch Erhitzen auf 100 °C absterben, bleiben Sporen unbeschadet.

Andererseits sind Sporen die zuverlässigsten **Indikatoren** zur regelmäßigen Prüfung der Funktionstüchtigkeit von Heißluftsterilisatoren und Autoklaven (s. Kap. 2.2.4). Man verwendet dazu standardisierte Teststreifen, die mit Sporen des thermophilen *Bacillus stearothermophilus* beladen sind. Diese Sporen müssen innerhalb der vorgeschriebenen Sterilisationszeit (z.B. 10 Minuten bei 121 °C heißem Wasserdampf oder 120 Minuten bei 160 °C Heißluft) abgetötet werden.

Literatur

BALOWS, A., H. G. TRÜPER, M. DWORKIN, W. HARDER, K.H. SCHLEIFFER: The Prokaryotes (vol. 1–4, 2nd ed.), Springer Verlag, New York (1992).

DAVIS, B., R. DULBECCO, H. EISEN and H.S. GINSBERG: Microbiology, 4th ed., Harper International Edition, 1990.
HAMMOND, S. M., P. A. LAMBERT and A .N. RYCROFT: The Bacterial Cell Surface, Croom Helm, London, Sydney, 1984.
KRIEG, N. R. and J. G. HOLT (eds.): Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1–4, Williams & Wilkins, Baltimore (1984–1988).
MADIGAN, M. T., J. M. MARTINKO and J. PARKER: Brock: Biology of Microorganisms, 8th ed., Prentice Hall Inc., Upper Saddle River (1997).
ROGERS, H. J.: Bacterial Cell Structure. American Society for Microbiology, Washington (1983).
SCHLEGEL, H.: Allgemeine Mikrobiologie, 7. Aufl., G. Thieme, Stuttgart, New York 1991.
WOESE, C. R.: Bacterial Evolution. Microbiological Reviews 51 (1987) 221–271.

3.2 Physiologie der Bakterien

HANS-GEORG SAHL

3.2.1 Wachstum von Bakterien

Zum Wachstum benötigen Bakterien, wie alle Lebewesen, Wasser und darin gelöste Nährstoffe. Die Nährstoffe müssen alle chemischen Elemente enthalten, die für den gesamten Stoffwechsel, d.h. für die Energiegewinnung, für den Aufbau von Zellmaterial und für die Aktivität von Enzymen benötigt werden.

Grundelemente und Spurenelemente

Zu den Grundelementen, die in höheren Kon-

[illegible]

allen oder nur in bestimmten physiologischen Situationen benötigt werden.

Stoffwechseltypen

Im Gegensatz zu den Pflanzen und den Tieren, die jeweils auf einen Ernährungstyp festgelegt sind, zeigen die Bakterien eine erstaunliche Vielfalt.

Sie sind oft in der Lage, je nach Nahrungsangebot auf verschiedene Ernährungsweisen umzuschalten.

Zur Charakterisierung des Stoffwechseltyps werden die genutzte Kohlenstoffquelle, die Energiequelle und der Wasserstoffdonator unterschieden. Kann der Zellkohlenstoff hauptsächlich aus CO_2 assimiliert werden, bezeichnet man diese Bakterien als *autotroph*, während *heterotroph* solche Bakterien sind, die organische Kohlenstoffquellen benötigen. Wenn das Sonnenlicht als Energiequelle genutzt werden kann, spricht man von *phototrophen* Bakterien und von *chemotrophen*, wenn chemisch gebundene Energie benötigt wird. Stammt schließlich der Wasserstoff bzw. die Elektronen, aus einer organischen Verbindung, so wird diese Ernährungsweise als *organotroph* bezeichnet, im Gegensatz zu *lithotroph*, wenn anorganische Quellen wie H_2S oder NH_4^+ erschlossen werden können.

Alle für die Medizin wichtigen Bakterien benötigen energiereiche organische Verbindungen zum Wachstum und sind somit *chemo-organo-heterotroph*. Es wird deutlich, daß sie damit nur einen kleinen Ausschnitt aus dem großen Bakterienspektrum darstellen.

Nährstoffansprüche medizinisch wichtiger

[illegible]

bestimmte Umweltverhältnisse haben sie die Fähigkeit der Synthese für einen oder für mehrere lebensnotwendige Stoffe verloren. Für sie müssen diese Substanzen deshalb im umgebenden Milieu zur Verfügung stehen. Die für das Wachstum unbedingt erforderlichen Bausteine, die außerhalb der Zelle verfügbar sein müssen, werden *Wachstumsfaktoren* genannt. Wichtige Wachstumsfaktoren für Bakterien sind Nicotinamid, Thiamin, Riboflavin, Pantothensäure, Biotin und Folsäure. Aber auch p-Aminobenzoesäure, Aminosäuren, Purine und Pyrimidine können Wachstumsfaktoren darstellen. Einen sehr hohen Bedarf an Wachstumsfaktoren haben z.B. die Milchsäurebakterien, die alle diese Stoffe in der Milch oder auf Schleimhäuten vorfinden.

Eine extreme Form der Abhängigkeit von der Nährstoffzufuhr zeigen obligat zellparasitäre Bakterien wie die Rickettsien und die Chlamydien. Die Chlamydien können z.B. keinen eigenen Energiestoffwechsel betreiben und sind auf die Zufuhr von ATP sowie einer Reihe weiterer Wachstumsfaktoren angewiesen. Sie lassen sich außerhalb von eukaryontischen Zellen praktisch nicht anzüchten.

In den üblicherweise bei der diagnostischen Bakteriologie benutzten Komplexnährböden, deren Grundlage Pepton, Blut oder andere organische Bestandteile darstellen, sind die erforderlichen Wachstumsfaktoren im allgemeinen bereits enthalten.

Wachstum und Vermehrung

Unter **Wachstum** versteht man die irreversible Zunahme an Biomasse. Sie läßt sich messen, indem man z.B. das Trockengewicht oder den organisch gebundenen Stickstoff bestimmt. Die Zunahme der Biomasse wird bewirkt durch eine Vergrößerung der Bakterienzelle, bis eine Querteilung in zwei Tochterzellen erfolgt (Abb. 3.14). Die Querteilung wird wahrscheinlich eingeleitet, wenn das Verhältnis von Zellvolumen und Zelloberfläche einen bestimmten, für die einzelnen Bakterienarten unterschiedlichen Wert erreicht. Die Zeit, in der sich die Zahl der Bakterienzellen verdoppelt, wird als **Generationszeit** bezeichnet.

Die Generationszeit einzelner Bakterienarten ist sehr unterschiedlich und von äußeren Einflüssen abhängig.

Sie kann sinnvollerweise nur während der exponentiellen Wachstumsphase (s.u.) bestimmt werden. Unter optimalen Bedingungen beträgt sie bei *E. coli* durchschnittlich 20 Minuten, bei züchtbaren Treponemen aber 4 bis 18 Stunden und bei *Mycobacterium tuberculosis* 18 Stunden. Die kurze Generationsdauer bei *E. coli* bedingt, daß auf festen Nährböden bei 37 °C aus einer Zelle in weniger als 24 Stunden eine sichtbare Anhäufung von Bakterien, eine Kolonie, gebil-

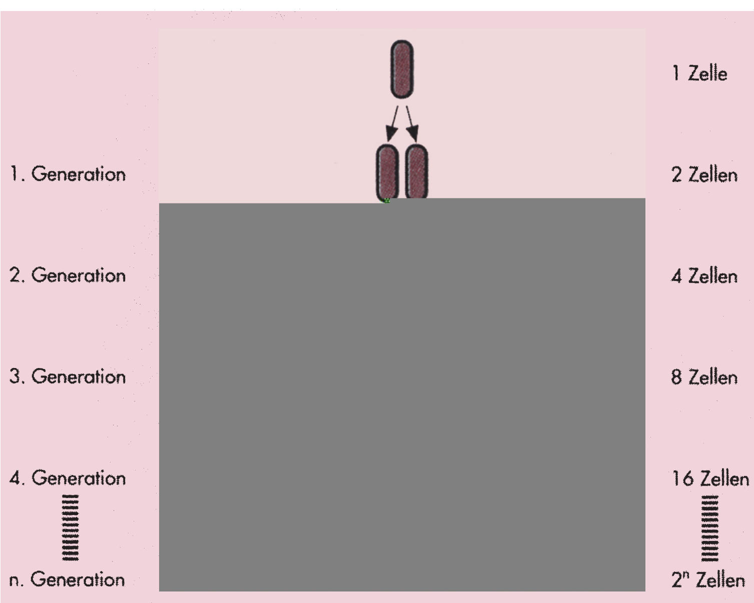


Abb. 3.14 Schematische Darstellung der exponentiellen Vermehrung von Bakterien. Bei Querteilung entstehen aus einer Zelle zwei Tochterzellen (aus einer Originalarbeit von W. Arber, Zürich, Mannheimer Forum 81/82, hrsg. von Boehringer Mannheim GmbH).

det wird, die viele Millionen (10^8 oder mehr) Zellen enthält. Bei *M. tuberculosis* dagegen dauert es etwa 14 Tage oder noch länger, bis auf geeigneten Nährböden ein Koloniewachstum erkennbar wird. Aus dieser Tatsache geht hervor, daß die kulturelle Diagnose der Tuberkulose wesentlich länger dauert als z.B. die von *E. coli.*

Wachstum in statischer Kultur

In einem flüssigen Nährmedium erfolgt nach Einimpfen einer definierten Bakterienzahl das Wachstum in bestimmten Phasen, da sich die Bedingungen ständig ändern. Die Kinetik der Vermehrung kann grafisch dargestellt werden, wenn regelmäßig die Zellzahl bestimmt und als Logarithmus gegenüber der Zeit in einem Koordinatensystem eingetragen wird (Abb. 3.15).

1. **Anlauf- oder Latenzphase (lag-Phase).** Zunächst passen sich die Bakterien an das neue Medium an. Dann erfolgt eine Größenzunahme und schließlich beginnen Zellteilungen, die an Geschwindigkeit mit der Zeit zunehmen.
2. Die Phase des **exponentiellen Wachstums (log-Phase).** Der Logarithmus der Zellzahl nimmt linear mit der Zeit zu.
3. **Stationäre** Phase. Kommt es zum Mangel an einzelnen Komponenten des Mediums oder treten hemmende Stoffwechselprodukte auf, nimmt die Geschwindigkeit der Zellteilungen wieder ab. Es sterben ebenso viele Bakterienzellen ab, wie durch Teilung hinzukommen.
4. Phase der **Abnahme der Zellzahl.** Hier überwiegt die Zahl der absterbenden Bakterien, wobei jedoch durch die sich auflösenden Zellen neue Nährstoffe für die noch lebenden Zellen entstehen. Es wird schließlich ein **Gleichgewichtszustand** erreicht, bei dem nur noch wenige lebende Zellen vorhanden sind. In diesem Zustand kann die Kultur über Wochen oder Monate verharren.

Auch das Wachstum auf einem festen Nährboden, bei dem eine Zelle zu einer Kolonie auswächst, ist eine statische Kultur, die nach einer bestimmten Zeit zum Stillstand kommt. Jedoch lassen sich hier die einzelnen Wachstumsphasen aus methodischen Gründen nicht verfolgen.
Bakterien kommen an ihren natürlichen Standorten praktisch nie als Reinkulturen vor, es sei denn, die äußeren Bedingungen sind so selektiv (z.B. der pH-Wert), daß nur noch eine extrem angepaßte Art hier wachsen kann. Vielmehr leben sie in komplexen Mischkulturen (siehe Kapitel 3.6: Normalflora), in denen sie sich nicht so ungehindert vermehren können, wie es unter definierten Bedingungen in Reinkultur der Fall ist. Ein limitiertes Nährstoffangebot, toxische Stoffwechselendprodukte und die Produktion von antagonistischen Substanzen (Bacteriocine, Antibiotika) führen zu einer natürlichen Begrenzung des Wachstums und zu einem labilen Gleichgewichtszustand, zu dem auch der Wirtsorganismus durch seine zahlreichen spezifischen und unspezifischen Schutzeinrichtungen einen wichtigen Beitrag leistet.

Physikalische Einflüsse auf das Wachstum

Es wurde bereits erwähnt, daß äußere Bedingungen einen entscheidenden Einfluß auf das Wachstum von Bakterien haben. Es sind vor allem physikalische Parameter, wie Temperatur,

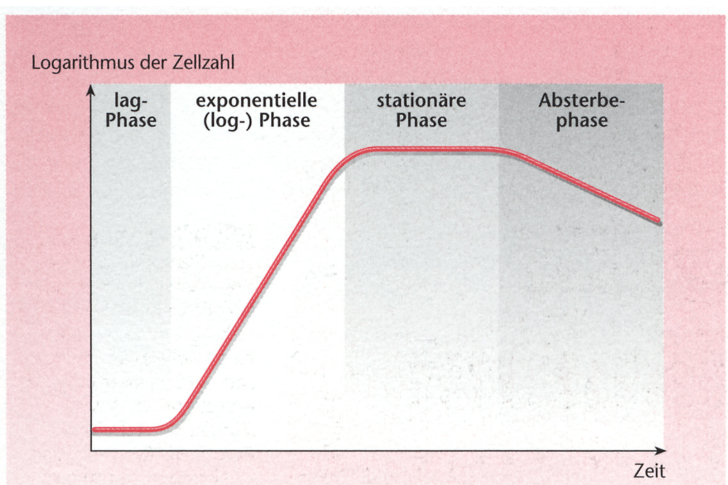


Abb. 3.15 Schematische Darstellung der Wachstumskurve einer Bakterienkultur in einer Nährflüssigkeit.

pH-Wert, Gaskonzentrationen und verfügbares Wasser, die jeweils nur in einem bestimmten Bereich ein Wachstum von Bakterien ermöglichen.

Temperatur
Entsprechend ihrer Temperaturoptima kann man die bisher bekannten Bakterienarten in **psychrophile** (Optimum < 15 °C), **mesophile** (20–45 °C) und **thermophile** (> 55 °C) einteilen. Naturgemäß liegt das Wachstumsoptimum der medizinisch bedeutsamen Bakterien im Bereich der Körperwärme (ca. 35–37 °C). Andere Bakterien vermögen jedoch durch strukturelle Besonderheiten ihrer Zellkomponenten noch in Extrembereichen wie 0 °C oder über 100 °C zu wachsen. Auch können Bakterien unterhalb 0 °C über lange Zeit am Leben bleiben, wobei jedoch kein Wachstum stattfindet.
Einige medizinisch relevante Bakterien (z.B. Listerien) können sich allerdings noch bei Kühlschranktemperaturen vermehren (Verderben von Nahrungsmitteln). Andere, wie die Meningokokken, sind auf 37 °C adaptiert und wachsen schon bei Zimmertemperatur nicht mehr. Die meisten (z.B. *Enterobacteriaceae*) können aber einen breiteren Temperaturbereich nutzen. Über 60 °C werden vegetative Zellen (mit Ausnahme der thermophilen Bakterien) geschädigt; Bakterien-**Sporen** werden erst durch Temperaturen über 100 °C abgetötet.

Wassergehalt
Wichtig für das Wachstum von Mikroorganismen ist die Verfügbarkeit von freiem Wasser. Auch hierin sind ihre Ansprüche recht unterschiedlich. Während sich medizinisch wichtige Bakterien nur in wäßrigem Milieu vermehren können – auch bei Wachstum auf festen Nährboden oder *in vivo* auf Epithelien steht Wasser praktisch unbegrenzt zur Verfügung – können viele Pilze Nahrungsmittel, die durch Wasserentzug haltbar gemacht werden (z.B. Käse, Marmeladen), besiedeln und durch Aflatoxinproduktion verderben. Bei der Lyophilisierung (Gefriertrocknung) wird den Mikroorganismen im tiefgefrorenen Zustand das freie Wasser nahezu vollständig entzogen. Auf diese Weise können Bakterien jahrelang aufbewahrt werden, ohne ihre Vermehrungsfähigkeit zu verlieren.

pH-Wert
Die meisten Bakterien wachsen optimal im Neutralbereich um pH 7. Laktobazillen, die unter physiologischen Bedingungen in der Vagina dominieren, und viele Pilze bevorzugen einen leicht sauren pH-Wert (ca. pH 5) und halten ihn durch Produktion von organischen Säuren aufrecht. An Extremstandorte adaptierte Bakterien (bis pH 1 und pH 14) spielen in der Medizin keine Rolle.

Sauerstoff

Im Verhalten gegen Luftsauerstoff (Tab. 3.3) lassen sich die **obligat aeroben** Bakterien, die auf das Vorhandensein von Luftsauerstoff angewiesen sind, die **fakultativ anaeroben** Bakterien, die sowohl bei Gegenwart von Luftsauerstoff als auch bei dessen Fehlen wachsen können, und die **obligat anaeroben** Bakterien unterscheiden.

Medizinisch relevante Bakterien findet man in allen drei Gruppen; die meisten gehören jedoch zu den fakultativ anaeroben (z.B. *Enterobacteriaceae)* und den obligat anaeroben Bakterien (z.B. Clostridien). Für alle obligat aeroben Bakterien ist der Sauerstoff zum Wachstum notwendig. Er dient im Zuge der Atmung als terminaler Elektronenakzeptor in der Atmungskette (s.u.) und kann in dieser Funktion nicht ersetzt werden. Im Gegensatz dazu können fakultativ anaerobe Bakterien auch andere Elektronenakzeptoren benutzen (Abb. 3.16). Fakultativ Anaerobe vermögen aber auch durch Gärung Energie für ihren Stoffwechsel zu gewinnen (s.u.). Sie können somit äußerst flexibel unter den jeweili-

Tab. 3.3 Bedeutung von Luftsauerstoff für Bakterien

Bakteriengruppe	Stoffwechsel
obligat Aerobe	aerobe Atmung (O_2 ist notwendig zur Oxidation organischer Substrate zu CO_2 und H_2O)
fakultativ Anaerobe	aerobe Atmung (in Gegenwart von O_2)
	Gärung oder anaerobe Atmung (in Abwesenheit von O_2)
obligat Anaerobe	Gärung oder anaerobe Atmung (O_2 ist toxisch)

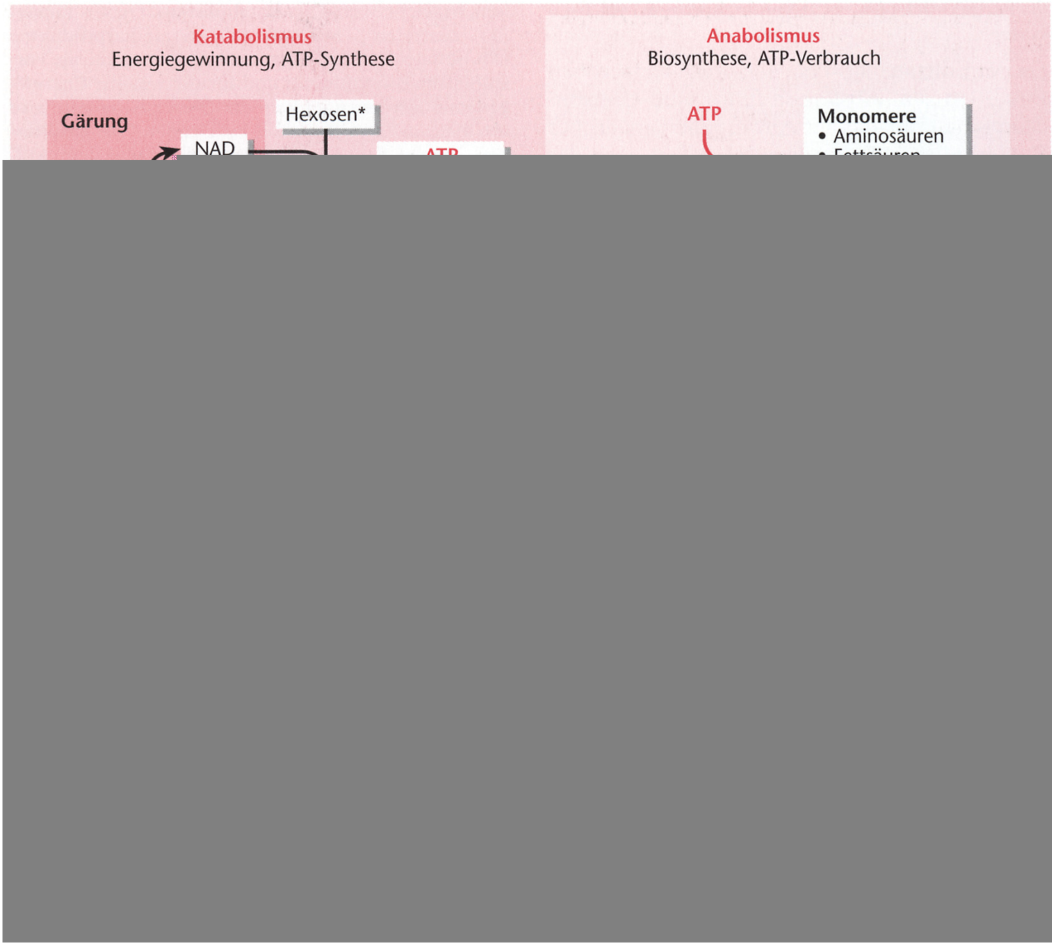


Abb. 3.16 Vereinfachtes, nicht stöchiometrisches Schema des bakteriellen Stoffwechsels *)Hexosen können durch Bakterien auf drei verschiedenen Wegen in Pyruvat überführt werden, die je nach Bakterienart in unterschiedlichem Ausmaß am Zuckerabbau beteiligt sind oder auch anabolische Aufgaben haben können: 1. Glykolyse (Emden-Meyerhof-Parnas-Weg); 2. Pentosephosphat-Weg; 3. 2-Keto-3-desoxy-6-phoshoglukonat-Weg (Entner-Doudoroff-Weg).

gen Gegebenheiten den effektivsten Stoffwechselweg benutzen und an vielen Standorten wachsen.

Für anaerobe Bakterien ist der Sauerstoff toxisch.

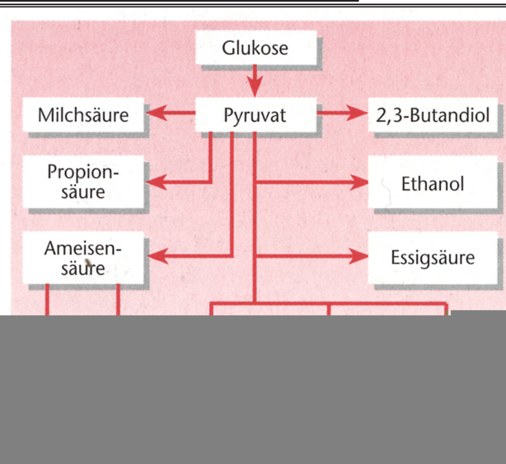
Das hat folgende Gründe: Bei der Reduktion des Sauerstoffs entstehen neben H_2O (Reduktion von O_2 durch die Zytochrom-Oxidase) auch O_2^{2-} und O_2^-, wenn nur zwei bzw. ein Elektron auf ein O_2-Molekül übertragen werden, bzw. wird, wie z.B. bei Aminosäure-Oxidasen oder der Xanthinoxidase. O_2^{2-}, das durch Protonenanlagerung zu H_2O_2 wird, und das Superoxidradikal O_2^- sind jedoch toxisch. Für ihre Entgiftung sorgen vor allem die **Katalase** ($2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$) und die **Superoxid-Dismutase** ($2\ O_2^- + 2\ H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$); bei vielen Anaerobiern fehlen entweder beide oder nur die Superoxid-Dismutase.

Neben diesen Gruppen gibt es noch **aerotolerante** und **mikroaerophile** Bakterien. Aerotolerante Bakterien sind anaerobe Bakterien, die einen geringen O_2-Partialdruck tolerieren können. Mikroaerophile hingegen sind aerobe Bakterien (z.B. die Gattung *Campylobacter)*, die jedoch nur in Gegenwart eines reduzierten

Diese Stellen sind vornehmlich das membrangebundene Enzym ATPase und Enzymsysteme des aktiven Transports. Hier wird der Rückfluß der Protonen mit der Synthese von ATP, bzw. der Aufnahme von Metaboliten gekoppelt (Abb. 3.17). Auch andere energieabhängige Prozesse, wie die Geißelbewegung, werden durch den Protonengradienten getrieben. Diese Art der ATP-Bildung durch die membrangebundenen Enzyme der Atmungskette und die

Säuregärung durch, bei der Laktat, Succinat, Azetat, Formiat, H_2 und auch Ethanol und 2,3-Butandiol entstehen. Bakterien der Gattung *Clostridium* produzieren vornehmlich Buttersäure und Butanol. In Abb. 3.18 sind die wichtigsten Gärungswege und Produkte zusammengefaßt.

Alle Reaktionen erbringen aber keinen weiteren Energiegewinn in Form von ATP, sondern dienen



($NADH_2$, $FADH_2$,) vollständig zur ATP-Synthese genutzt werden, können maximal **38 Mol ATP** pro Mol Glukose gewonnen werden, wenn man die durch Substratphosphorylierung gebildeten ATP addiert. Dieses dokumentiert die enorme Effizienz der Atmung im Vergleich zur Gärung sehr eindrucksvoll.
Allerdings können klassische Gärer wie die Clostridien auch in gewissem Umfang einen Elektronentransport durchführen, z.B. mit Hilfe der membrangebundenen Fumaratreduktase, die bei der Reduktion von Fumarat zu Succinat Protonen im Sinne der chemiosmotischen Theorie aus dem Zytoplasma schleust und somit einen Protonengradienten erzeugt, der zur ATP-Synthese beiträgt. Dadurch wird zwar die ungünstige Bilanz der Gärung im Vergleich zur Atmung verbessert, deren Effizienz jedoch nicht erreicht.

Sekundärstoffwechsel
Die bisher beschriebenen Stoffwechselwege zur Energiegewinnung und auch die nicht näher betrachteten Biosynthesewege der Zellbausteine und Biopolymere sind für die Zelle essentiell. Daneben produzieren Bakterien und Pilze eine Reihe weiterer Substanzen, deren Nutzen primär nicht ersichtlich ist. Sie werden deshalb als **sekundäre Metabolite** und die Stoffwechselwege, die zu ihrer Synthese führen, als **Sekundärstoffwechsel** bezeichnet.

Die bekanntesten Produkte des Sekundärstoffwechsels sind *Antibiotika, Mykotoxine* und andere Wirkstoffe mit z.T. großer industrieller Bedeutung.

Bedeutung der Stoffwechselleistungen für die Diagnostik von Bakterien
Das Vermögen einer Bakterienart, einen bestimmten Stoffwechselweg zu beschreiten, eine bestimmte Substanz zu verwerten oder ein bestimmtes Produkt zu bilden, sind wichtige Kriterien für eine systematische Klassifizierung und die Diagnostik der Bakterien. Soll z.B. ein Krankheitserreger identifiziert werden, so untersucht man auch seine Stoffwechselleistungen und Enzymausstattung. Man überprüft z.B. das Vorhandensein von Katalase, Oxidase, das Wachstum in Gegenwart von O_2, das Wachstum bei verschiedenen Temperaturen, oder das Vorhandensein von zahlreichen Enzymen. Einzelheiten sind bei der Besprechung der verschiedenen Bakterienarten angegeben (s. auch Kap. 2.3: Mikrobiologische Untersuchungsverfahren).

Literatur

DAVIS, B., R. DULBECCO, H. EISEN and H.S. GINSBERG: Microbiology, 4th ed. Harper International Edition, 1990.

GOTTSCHALK, G.: Bacterial Metabolism, Springer Verlag,New York, Heidelberg, Berlin, 2nd ed., 1986.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J.: Brock: Biology of Microorganisms, 8th ed., Prentice Hall Inc., Upper Saddle River (1997).

SCHLEGEL, H.: Allgemeine Mikrobiologie, 7. Aufl., G. Thieme, Stuttgart, New York 1991.

SALYERS, A.A., WHITT, D.D.: Bacterial pathogenesis – a molecular approach, ASM Press, Washington, D.C. (1994).

STRYER, L.: Biochemie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 4. Aufl., 1996.

3.3 Genetik der Bakterien

JÖRG HACKER

Die Genetik beschäftigt sich mit den Mechanismen der Vererbung bestimmter Merkmale von einer Organismengeneration auf die nächste. Unter **Gen** wird ein Teilbereich der Nukleinsäure verstanden, der eine bestimmte Information trägt, die meist in eine Aminosäuresequenz übersetzt wird. In der Genetik wird zwischen *Genotyp* und *Phänotyp* von Organismen unterschieden. Unter **Genotyp** wird die Gesamtheit der *genetischen* Anlagen verstanden, während als **Phänotyp** die Gesamtheit der *exprimierten* Merkmale bezeichnet wird.
Die Gesetze der Vererbung werden seit langem intensiv studiert. Mit dem Aufkommen der molekularen Genetik, vor allem aber mit der Entwicklung der Gentechnologie, haben sich viele genetische Methoden zu Standardlabortechniken entwickelt, mit deren Hilfe Probleme aus den verschiedensten Bereichen der Biologie und Medizin untersucht werden können. Auch unser Wissen um die Mechanismen der mikrobiellen Pathogenität und um die Ausbreitung pathogener Erreger ist durch die Anwendung genetischer Methoden revolutioniert worden. Die Entwicklung der molekularen Genetik als relativ eigenständige Wissenschaftsdisziplin hat die Entstehung einer Reihe von z.T. neuen Fachtermini nach sich gezogen, von denen einige in Tabelle 3.4 aufgeführt sind.

Tab. 3.4 Erklärung einiger Begriffe aus der molekularen Genetik

Begriff	Erklärung
Aktivator	Regulatorprotein, bindet an DNA-Bereiche in der Nähe der Promotoren, fördert eine effektive Transkription und führt zur „positiven" Genregulation
Bakterien-Chromosom	ringförmiges, großes, selbstreplizierendes DNA-Molekül, Träger aller wichtigen Gene eines Bakteriums
Bakteriophage	„Bakterien-Virus", kann nur kurze Zeit autonom existieren, Nukleinsäure kann in Bakterien-Genom integrieren
DNA-Polymerasen	Enzyme, die die Neusynthese von DNA-Strängen katalysieren
downstream	in Richtung auf das 3′-Ende einer DNA
Gen	Teilbereich einer Nukleinsäure, der eine genetische Information trägt, kann meist in eine Aminosäuresequenz übersetzt werden
Genomics	beschreibt die Analyse der Genome von Organismen
Genotyp, Genom	Gesamtheit aller genetischen Anlagen eines Organismus
Gensonde	bekanntes kloniertes Gen und Teilsequenz eines Gens; wird nach Markierung als Werkzeug zur Charakterisierung von unbekannter Nukleinsäure eingesetzt

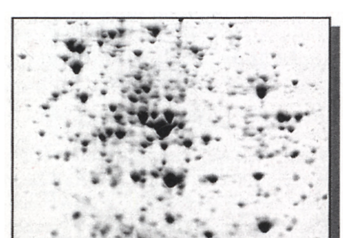
Es sind vor allem drei Makromoleküle, die in der Genetik von Interesse sind. Die **Desoxyribonukleinsäure** (DNS, engl. „deoxyribonucleic acid“, **DNA)** fungiert bei den meisten Organismen, darunter auch bei Bakterien, als Träger der genetischen Information. Diese Information wird im Verlauf eines als Transkription bezeichneten Prozesses in **Boten-Ribonukleinsäure** (engl. „messenger ribonucleic acid“, **mRNA)** übersetzt. Während der Translation werden auf der Grundlage der in der mRNA verankerten Botschaft **Proteine** gebildet, die eine spezifische, schon in der DNA vorgezeichnete Aminosäuresequenz besitzen. Diese von Francis Crick als „Dogma der Molekularbiologie“ bezeichneten Gesetzmäßigkeiten gelten sowohl für Eukaryonten als auch für Prokaryonten, also auch für Bakterien. Dennoch unterscheiden sich die genetischen Prozesse bei Bakterien von denen der Eukaryonten in einer Reihe von Details. Eine gewisse Modifikation hat das „Dogma“ „DNA zu mRNA, mRNA zu Protein“ durch die Entdeckung der *Reversen Transkriptase* erfahren. Mit Hilfe dieses Enzyms ist es möglich, RNA, die bei bestimmten Tumorviren als genetisches

3.3.1 Struktur der DNA

Das bakterielle Genom besteht aus **DNA.** Die DNA selbst ist aus **Nukleotiden** aufgebaut, die durch Phosphodiesterbrücken miteinander verbunden sind. Ein Nukleotid wiederum besteht aus einer Purinbase (Adenin oder Guanin) oder einer Pyrimidinbase (Cytosin oder Thymin), einem Phosphatanteil und einem Zucker (Desoxyribose). Das Zucker-Phosphatgerüst der DNA wird über die 3’- bzw. die 5’-OH-Gruppen der Pentosen miteinander verknüpft, wodurch das Molekül eine Polarität erhält. DNA-Moleküle sind in der Regel doppelsträngig aufgebaut (Abb. 3.19). Die Basen eines Stranges der DNA paaren komplementär über A-T- bzw. G-C-Brücken mit den entsprechenden Basen des zweiten Stranges, die Paarung erfolgt über Wasserstoffbrückenbindungen. So entsteht das DNA-Molekül mit zwei rechtsgängig umeinander gewundenen Strängen, wie es von Watson und Crick 1953 vorgeschlagen wurde. Bedingt durch die Struktur einer Doppelhelix bildet ein DNA-Molekül nun zwei Furchen, die sog. „major groove“ und die „minor groove“. Diese Fur-



3



santerweise reagieren bestimmte Antibiotika, die Gyrasehemmer genannt werden, beispielsweise Nalidixinsäure und Chinolone, mit einer Untereinheit der Topoisomerase II, was zu einer Blockierung der DNA-Replikation und damit zu einem bakteriziden Effekt führt. Punktmutationen innerhalb von Gyrasegenen führen wiederum zur Ausbildung von Resistenzen gegenüber solchen Antibiotika.Weiterhin spielen für die Packung von bakterieller DNA basische Proteine eine Rolle. Einer dieser Faktoren, das H-NS-Protein, trägt über eine Veränderung der DNA-Topologie zur Regulation bestimmter Gene bei. Das H-NS-Protein wird von einem Genlocus kodiert, der als *osmZ* („osmotic regulation") bezeichnet wird, da er ursprünglich bei der Suche nach Mutanten, die die Osmoseregulation von Bakterien beeinflussen, identifiziert wurde. Einige dieser *osmZ*-regulierten Loci kodieren für Faktoren, die einen Beitrag zur Virulenz von pathogenen Enterobakterien leisten.

3.3.3 Semikonservative Replikation der DNA

Die genetische Information, die durch die Nukleotidabfolge in der DNA repräsentiert wird, muß von einer Organismengeneration auf die nächste weitergegeben werden. Dieser Prozeß, der als **identische Replikation** der DNA-Sequenz bezeichnet wird, ist eine wesentliche Grundlage für die Konstanz der biologischen Arten. Wichtige Experimente zur Replikation der DNA sind um 1960 von MESELSON und STAHL und von CAIRNS und Mitarbeitern durchgeführt worden. Bei der Replikation kommt es an einer bestimmten chromosomalen DNA-Sequenz, dem sog. „origin of replication", zu einer Trennung der beiden DNA-Stränge (s. Abb. 3.19). Die alten Stränge stellen jeweils die Matrizen („templates") für die Synthese der beiden neuen DNA-Stränge dar. Da das DNA-Molekül nach erfolgter Replikation aus einem alten („konservierten") und einem neuen Strang besteht, spricht man auch von **semikonservativer Replikation.** Ausgehend von der sog. „Replikationsgabel" erfolgt die Replikation des Chromosoms in beide Richtungen (bidirektional).

Die Replikation der DNA ist ein sehr komplizierter Prozeß, an dem über 20 unterschiedliche Enzyme beteiligt sind. Zunächst wird durch eine DNA-abhängige RNA-Polymerase (Primase) ein kurzer RNA-Einzelstrang synthetisiert. Dieses Oligonukleotid paart mit einem entwundenen DNA-Einzelstrang und bildet einen Startpunkt („*primer*") für die Neusynthese der DNA. Der DNA-Primer wird später entfernt. Bei der Synthese neuer DNA wird vor allem ein Enzym wirksam: die **DNA-Polymerase III.** Da das Wachsen der DNA-Stränge immer in 5'-3'-Richtung erfolgt, kann ein Strang kontinuierlich synthetisiert werden, die Synthese am anderen Strang dagegen muß diskontinuierlich erfolgen. Die neu synthetisierten DNA-Fragmente (OKAZAKI-Fragmente) an diesem Strang werden dann durch eine Ligase miteinander verbunden. Interessanterweise besitzt die DNA-Polymerase III auch eine 3'-5'-Exonuklease-Aktivität, so daß eine fehlerhafte Replikation in vielen Fällen repariert werden kann („proofreading").
Neben dieser Form der bidirektionellen, semikonservativen Replikation des Chromosoms ist bei Plasmiden und Bakteriophagen auch das sog. „rolling circle model" der Replikation bekannt. Hier beginnt die Replikation des zirkulären DNA-Moleküls mit einem nukleolytischen Schnitt an einem Strang. Von diesem Wachstumspunkt aus erfolgt die Neusynthese der DNA. Im Verlauf der Replikation kommt es zu einer vollständigen Verdrängung eines Einzelstranges aus dem zirkulären Molekül. Durch die Synthese eines zum verdrängten Strang komplementären Stranges entsteht dann wiederum ein doppelsträngiges DNA-Molekül. Um eine kontinuierliche DNA-Replikation bei einem fest fixierten Ort der Synthese zu gewährleisten, muß sich der innere Ring der DNA drehen, damit dem Replikationsapparat stets neue Nukleotidsequenzen zur Verfügung stehen.

3.3.4 Transkription

Ein Schlüsselvorgang bei der Realisierung der genetischen Information ist die *Übertragung der Nukleotidabfolge von DNA auf **„messenger"-RNA (mRNA).*** Dieser Vorgang wird **Transkription** genannt. Die RNA ist ähnlich aufgebaut wie die DNA, allerdings kommt als Pentose nicht Desoxyribose sondern *Ribose* vor. Weiterhin wird *Uracil* statt Thymin als Pyrimidinbase in die Nukleinsäure eingebaut. Neben der mRNA, die als einsträngiges Molekül vorliegt, sind zwei weitere RNA-Spezies bekannt: die **Transfer-RNA (tRNA)** und die **ribosomale RNA (rRNA).**

Die tRNAs sind für die Synthese der Proteine von Bedeutung. Die rRNAs sind Bestandteile der Ribosomen. Die 16S RNA spezifischen Gene, die für die 16S rRNAs kodieren, sind bei Prokaryonten stark konserviert. Allerdings treten auch geringe Unterschiede zwischen den 16S RNA spezifischen Genen unterschiedlicher Arten auf, so daß die Sequenzen dieser Gene zur Artbestimmung mit herangezogen werden. Weiterhin stellen rRNA-Moleküle Zielstrukturen für die Spezies-spezifische Identifizierung von Bakterien mit Hilfe von DNA-Sonden dar.

Essentiell für die Synthese der mRNA und damit für die Realisierung der genetischen Information ist die **DNA-abhängige RNA-Polymerase.** Dieses Enzym besteht aus mehreren Untereinheiten und ist in der Lage, unter Beteiligung des sog. Sigma-Faktors an eine spezifische DNA-Se-

quenz, den sog. **Promotorbereich** zu binden (Abb. 3.21). Promotoren sind vor den kodierenden Bereichen der Gene lokalisiert. Sie zeigen sog. **Konsensus-Sequenzen,** die bei *E. coli* 10 Nukleotide (–10 Region oder PRIBNOW-Box) bzw. 35 Nukleotide (–35 Region) stromaufwärts von den mRNA Startpunkten liegen. Die Basenabfolge der „idealen“ *E. coli* –10-Box lautet TATAAT, die Sequenz der –35-Box ist TTGACA. Oftmals sind weitere DNA-Sequenzen und zusätzliche Proteine bei der Bindung der RNA-Polymerase an die Promotoren beteiligt. Mit Hilfe verschiedener Methoden ist es heute möglich, den genauen mRNA-Startpunkt für bestimmte Gene zu identifizieren und so auch die Konsensus-Sequenzen für die Promotoren festzulegen. Wenige Nukleotide vor dem Startcodon für prokaryontische Gene (ATG) ist die sog. **„Shine-Dalgarno“ (SD)-Sequenz** lokalisiert, die bei der Translation eine Bedeutung hat und als Bindungsstelle für das Ribosom verwendet wird.

Die mRNA-Synthese erfolgt nach Aufwindung des DNA-Moleküls stets am sog. „codogenen Strang“ in 3'-Richtung. Am Ende der kodierenden Bereiche bilden sich häufig Terminationsstrukturen aus, die ein Ablösen der RNA-Polymerase von der DNA zur Folge haben. Die Terminatoren bestehen aus palindromischen (spiegelbildlichen) Nukleotidsequenzen, die eine Haarnadelstruktur ausbilden können. Einige Antibiotika (beispielsweise Rifampicin) sind in der Lage, die RNA-Polymerase zu inaktivieren und so eine antimikrobielle Wirkung zu erzielen.
Im Gegensatz zu eukaryontischen Organismen können bei Bakterien sowohl Gene einzeln als auch *en bloc* transkribiert werden. Mehrere hintereinanderliegende Gene werden als **Operon** bezeichnet. Man spricht auch von *monocistronischen* bzw. *polycistronischen* mRNAs. Bei eukaryontischen Organismen kennt man noch den Vorgang des „splicings“, bei dem die kodierenden Bereiche **(Exons)** aus einem Gesamt-mRNA-Molekül herausgeschnitten und neu zusammengesetzt werden. Die nicht-kodierenden Bereiche werden dabei als **Intron-**Bereiche bezeichnet.

Das Transkriptom

Einhergehend mit der Analyse der vollständigen DNA-Sequenzen einzelner Organismen *(„Genomics“)* verspricht die möglichst *vollständige Erfassung der mRNA-Moleküle eines Organismus* in Form von **Transkriptomen** neue Erkenntnisse über die Expression von Genen. Dabei spielt der Einsatz von Mikroarrays oder „Bio-Chips“ eine große Rolle (s. Abb. 3.20). Auf die Chip-Matrices können viele (bis zu mehreren tausend) DNA-Sequenzen, repräsentiert durch Oligonukleotide auf engsten Raum (z.B. 1 mm^2) aufgebracht werden. Diese verschiedenen Oligonukleotide können etwa ein Genom oder Teile davon repräsentieren. Nach Hybridisierung von isolierter mRNA oder umgesetzter cDNA eines Mikroorganismus mit einer solchen Chip-Matrix läßt sich ein Expressionprofil ganzer Genome erstellen. In Zukunft wird diese Technologie auch dazu dienen, in einer erweiteren Analyse für Infektionserreger die Expression von Virulenzgenen (z.B. Toxin-Genen) oder von Resistenzgenen zu bestimmen.

3.3.5 Translation

Im Verlauf der **Translation** wird die *Basensequenz der mRNA in die **Aminosäuresequenz der Proteine** übersetzt.* Während bei Eukaryonten Transkription und Translation zu unterschiedlichen Zeiten an unterschiedlichen Orten (Zellkern und Zytoplasma) stattfinden, gehen beide Prozesse bei Prokaryonten ineinander über. Orte der Eiweißsynthese sind Multienzymkomplexe aus RNA und Proteinen, die sog. **Ribosomen.** An bestimmte Stellen der Ribosomen kön-

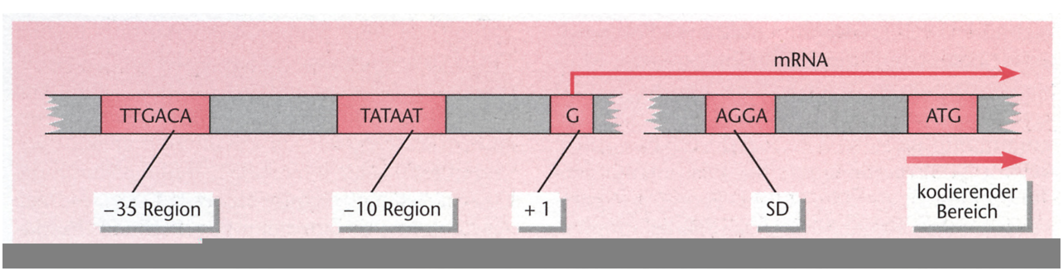


Abb. 3.21 Schematische Darstellung eines Promotor-Bereiches von *Escherichia coli.* Es sind die Konsensus-Sequenzen (–35-Region, –10-Region), das Startnukleotid für die mRNA, die Ribosomen-Bindungsstelle (Shine-Dalgarno-Sequenz, SD) und das Startcodon für den kodierenden Bereich dargestellt.

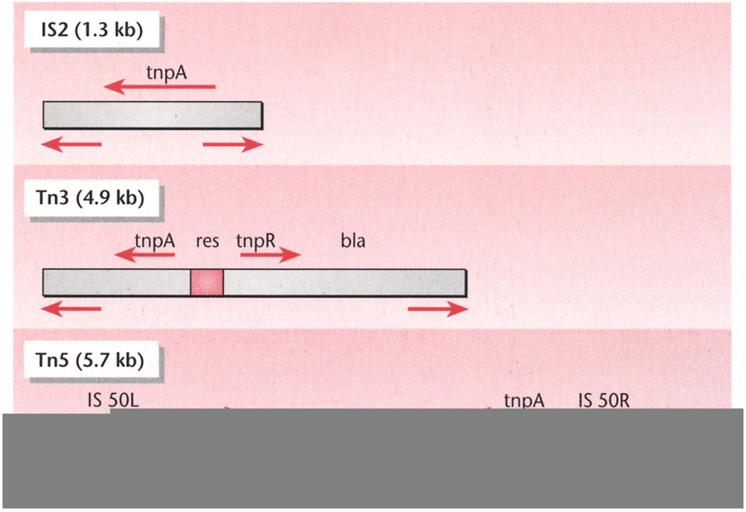


Abb. 3.23 Struktur von IS-Elementen und Transposons. Abkürzungen: *tnp*A, Transposase-Gen; res, Resolvase site; *tnp*R, Resolvase-Gen; *kan*, Kanamycin-Resistenzgen; *str*, Streptomycin-Resistenzgen; *bleo*, Bleomycin-Resistenzgen; *bla*, β-Laktamase; die oberen Pfeile geben die Transkriptionsrichtung von Genen an, die unteren Pfeile stellen IR (inverted repeats) dar.

plexe genetische Gebilde dar, die eine eigene Target-Sequenz und ein Gen, das für eine spezifische Integrase kodiert, tragen. Integrons können so bestimmte Gene, insbesondere Resistenzgene, „sammeln" und

von einem **Spenderorganismus (Donor)** auf einen **Empfänger (Rezipient** oder Akzeptor) transferiert wird. Bei Genübertragungen zwi-



Abb. 3.24 Möglichkeiten des Gentransfers bei Bakterien.
a) Transformation, b) Transduktion, c) Konjugation.

Bei gram-negativen Bakterien wird ein derartiger kompetenter Zustand u.a. durch Behandlung der Zellen mit $CaCl_2$ erreicht. Neuerdings können Bakterien auch durch das Ausnutzen elektischer Felder *(Elektroporation)* in einen kompetenten Zustand versetzt werden. Eine Reihe von Bakterien, u.a. *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* oder *Streptococcus pneumoniae* liegen jedoch in einem Zustand der natürlichen Kompetenz vor. Die biologische Bedeutung dieser natürlichen Kompetenzstadien mag darin liegen, daß so eine größtmögliche Variabilität bestimmter genetischer Merkmale, etwa die Ausbildung unterschiedlicher Formen von Zellwandanhängseln (Pili) bei *N. gonorrhoeae* oder die Expression der Penicillinresistenz bei Pneumokokken erreicht wird. Als Sonderform der Transformation gilt die **Transfektion,** in deren Folge Bakteriophagen-DNA in Bakterien transferiert wird. Die Transformation hat sich in den vergangenen Jahren zu einer Standardmethode entwickelt, um neurekombinierte DNA in Zellen zu übertragen; sie ist damit eine grundlegende Methode der modernen Molekularbiologie und der Gentechnologie.

Transduktion

Bei der **Transduktion** als zweiter Möglichkeit des Gentransfers bei Bakterien kommt es zur *Übertragung von bakterieller DNA durch* ***Bakteriophagen*** (s. Abb. 3.24). Bakteriophagen sind Viren, die Bakterien als Wirtszellen verwenden.

Die meisten Bakteriophagen, beispielsweise die *E.coli*-Phagen T4 besitzen DNA als genetisches Material, einige Phagen wie MS2 oder Qβ enthalten jedoch RNA-Moleküle. Bakteriophagen sind in der Lage, sich durch einen lytischen oder einen *lysogenen Zyklus* zu vermehren. Während des *lytischen Zyklus* adsorbieren Bakteriophagen an spezifische Rezeptoren der Bakterienoberfläche. Danach entlassen die Bakteriophagen ihre Nukleinsäure, meist DNA, in das Zytoplasma der Bakterien. Innerhalb kurzer Zeit kommt es zu einem „Umschalten" des bakteriellen Stoffwechsels auf die Bedürfnisse der Phagen. Es werden Strukturproteine der Phagen gebildet und nach Lyse der Bakterienzellwand werden einige hundert Phagenpartikel abgegeben, die jetzt ihrerseits neue Wirtsbakterien befallen können. Allerdings kann die DNA der Bakteriophagen auch in das Bakterienchromosom integrieren. Man spricht dann von **temperenten Phagen** oder **Prophagen;** die Weitergabe der phagenspezifischen Nukleinsäure von einer Bakteriengeneration auf die nächste erfolgt dann durch Replikation des Chromosoms (lysogener Zyklus). Die Phagen-DNA kann aber auch aus dem Chromosom herausgeschnitten werden, wobei dann der lytische Zyklus neu eingeleitet wird.

sed“) Form vor. Plasmide können in einigen Spezies (u.a. *Borrelia)* aber auch durch lineare DNA-Moleküle repräsentiert werden. Plasmide sind in 1 bis 100 Kopien in der Zelle vorhanden. Größere Plasmide sind oftmals durch Konjugation transferierbar. Das Modell eines Transfer-Plasmides ist in Abb. 3.25 dargestellt. Neben den Genen für Transfer und Replikation tragen viele dieser Plasmide ein ***inc*- („incompatibility“) Gen,** dessen Produkt die gemeinsame Replikation von zwei Plasmiden derselben *inc*-Gruppe in einer Zelle verhindert.

Plasmide können eine Reihe von „zusätzlichen“ Genen tragen, die bei Krankheitserregern eine große Bedeutung für das Infektionsgeschehen haben. Zum einen sind **Resistenz (R)-Plasmide** bekannt, die oft mehrere Antibiotika-Resistenzen vermitteln. Die Resistenzgene können wiederum auf Transposons oder Integrons lokalisiert sein, wie dies in Abb. 3.25 dargestellt ist. Die oftmals über Artgrenzen hinweg beobachtete Übertragung von **Multiresistenz-Plasmiden** ist ein großes Problem in der klinischen Mikrobiologie. Darüberhinaus können auch virulenzassoziierte Gene auf Plasmiden vorkommen. Wie in Tabelle 3.7 dargestellt, können dies Gene sein, die für Adhäsine, Toxi-

sich auch um integrierte und mutativ veränderte Plasmide handeln. Darüber hinaus können Plasmide für eine Reihe von weiteren Funktionen kodieren (s.Tab. 3.7) von denen die **Bakteriocine** ebenfalls eine Bedeutung für die Medizinische Mikrobiologie haben können. Mit Hilfe der Bakteriocine können Bakterien sensitive Vertreter der eigenen Art abtöten und so einen Wachstumsvorteil in einer Bakterienpopulation erlangen.

Konjugation

Zur **Konjugation** sind nur Bakterien befähigt, die **transferierbare** oder **mobilisierbare Plasmide** tragen. Die *tra*⁺ Gene dieser Plasmide kodieren u.a. für „Sex-Pili“. Diese Pili stellen Zellwandanhängsel von ca. 5 nm Dicke und 2 µm Länge dar. Sie sind in der Lage, Rezeptoren auf anderen, nicht plasmidtragenden Zellen zu erkennen. Nach Kontaktaufnahme von Pili und Rezeptor kann der Konjugationsvorgang beginnen. Während der Konjugation kommt es wahrscheinlich zu einem kurzzeitigen Verschmelzen der Zellwände beider Konjugationspartner und

3

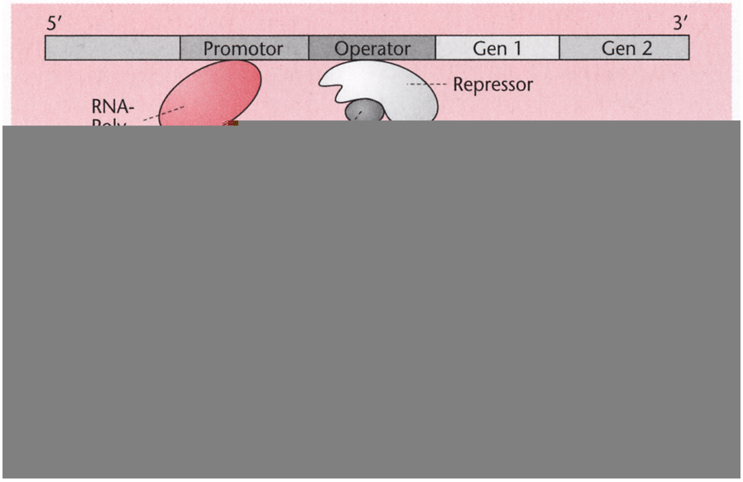


Abb. 3.26 Darstellung genetischer Regulationsmechanismen.

Verbindungen, die durch die Genprodukte umgesetzt werden, induziert. Dies geschieht im Falle des Laktose (*lac*)-Operons. Das Hauptgenprodukt des *lac*-Operons, das Enzym β-Galaktosidase, spaltet das Disacharid Laktose in Galaktose und Glukose. Das *lac*-Operon wird jedoch nur transkribiert, wenn der Lac-Repressor durch ein Laktose-Derivat, das als Induktor wirkt, gebunden wird. In diesem Fall ist der Repressor nicht mehr in der Lage, an die Operatorsequenz zu binden, um die Transkription des *lac*-Operons zu inhibieren. Das Enzym β-Galaktosidase wird dann produziert.

Neben diesen „negativen", durch Repressoren beeinflußten Regulationsmechanismen sind auch Beispiele für eine **„positive" Regulation** bakterieller Gene bekannt. In diesen Fällen bindet ein sog. **Aktivator** meist „stromaufwärts" („upstream") von der Promotorregion an die DNA, um die Bindung der RNA-Polymerase an die Konsensus-Sequenzen zu unterstützen.

In der Nähe der Promotorregion des *lac*-Operons bindet beispielsweise der Crp („catabolite repression protein")-Faktor, der so die Transkription unterstützt. Interessanterweise ist das Crp-Molekül nur aktiv, wenn als Co-Faktor ein Molekül zyklisches AMP (cAMP) gebunden wird. Der cAMP-Spiegel wiederum sinkt drastisch, wenn Glukose im Medium vorhanden ist, so daß hier eine weitere, durch Umweltfaktoren determinierte Regulationsebene realisiert ist. Auch andere genetische Determinanten wie das Arabinoseoperon werden durch Aktivatoren reguliert. Derartige Aktivierungen sind auch für Gene bekannt, deren Produkte eine Rolle in der Pathogenität von Bakterien spielen.

Repression und Aktivierung von Genen spielen auch eine bedeutende Rolle bei Regulationsereignissen, die durch das **„Zwei-Komponenten-Modell"** beschrieben werden können. Gene, die durch ein „Zwei-Komponenten-Modell" reguliert werden, unterliegen einer strikten Umweltkontrolle, die in der Regel über zwei Kontrollproteine, dem **„Sensor"** und dem **„Receiver"** ausgeübt wird. Das Schema eines „Zwei-Komponenten-Modells" ist in Abb. 3.27 dargestellt.

Bei dem sog. „Sensor-Protein" handelt es sich um ein Membranprotein, dessen N-Terminus ins Periplasma reicht und das hier bestimmte Umweltsignale wie Osmolarität oder Temperatur aufnimmt. Die Sensor-Proteine sind Histidinkinasen. Sie sind in der Lage, unter bestimmten äußeren Bedingungen (Signal) Autophosphorylierungen durchzuführen. Die Phosphatgruppen werden dann an sog. „Receiver-Proteine" weitergegeben, hier kommt es zu einer Phosphorylierung von Aspartatresten. Die Receiver-Proteine stellen ihrerseits DNA-Bindungsproteine dar, die direkt mit der DNA interagieren und so die Aktivität bestimmter Operons dirigieren. Die Fähigkeit der Regulator-Proteine, an DNA zu binden, ist wiederum direkt abhängig von ihrer Phosphorylierung, so daß ein Signaltransfer von Umweltparametern auf die Aktivität bestimmter Gene möglich wird. Als klassisches Beispiel für die „Zwei-Komponenten"-Regulation gelten die äußeren Membranproteine OmpC und OmpF, die bei pathogenen Enterobakterien zur Virulenz beitragen können. Sie werden durch den Sensor EnvZ und den Receiver OmpE reguliert. Diese Regulatoren reagieren auf Änderungen der Osmolarität. Auch andere Virulenz-assoziierte Gene bei Salmonellen, *Bordetella pertussis, Vibrio cholerae* und anderen pathogenen Organismen unterliegen einer Kontrolle durch „Zwei-Komponenten-Systeme".
Ein ebenfalls häufig bei pathogenen Bakterien realisiertes Regulationsprinzip ist das des „Quorum sensing". Dabei werden von Bakterien kleine Moleküle (bei gram-negativen Bakterien häufig Homoserin-Lakton-Derivate) produziert, die wiederum als Indukto-

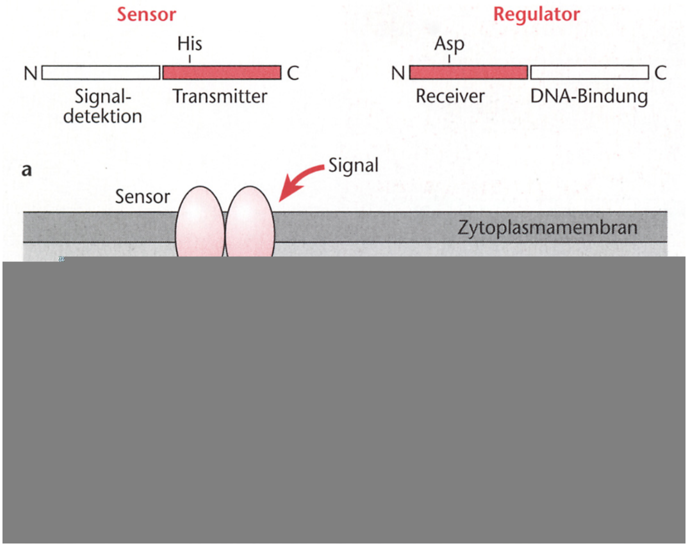


Abb. 3.27 Schema eines Zwei-Komponenten-Regulationssystems. **a)** Darstellung von Sensor- und Regulator-Molekülen **b)** Signalübertragung (nach HACKER und HEESEMANN, 1999).

ren von Operons fungieren können. Allerdings kommt es erst dann zu einer Induktion, wenn genügend große Mengen des Induktor produziert werden, d.h. wenn die Bakterienpopulation eine bestimmte Dichte erreicht hat. Besonders gut untersucht ist das „Quorum sensing"-System bei *Pseudomonas aeruginosa*, dem auch die Regulation von Toxingenen unterliegt.

3.3.10 Grundlagen der Gentechnik

Bei der Gentechnik handelt es sich um ein Methodenspektrum, mit dessen Hilfe Gene isoliert und neu rekombiniert (kloniert) werden können. Die „klassische" Mikrobengenetik, die Mikrobiologie und die Biochemie haben mit der Identifizierung von Plasmiden, der Entdeckung entsprechender Enzyme (Restriktionsendonukleasen, Ligasen) und der Etablierung von Transfermethoden diese Technologie erst möglich gemacht. Wie in Abb. 3.28 dargestellt, werden mittels gentechnischer Methoden Gene aus ihrem Genomverband heraus isoliert und in Vektor-Plasmide kloniert, die dann wiederum in verschiedene Organismen oder Zellen übertragen werden können. Somit können Gene und ihre Produkte isoliert analysiert werden.

Gene können auch gezielt in **Expressionsvektoren** kloniert werden, um das Produkt in größerer Menge zu erhalten, eine Methode, die in der Biotechnologie vielfach zur Anwendung kommt. Mit Hilfe von **„shuttle-**

Molekulare Pathogenitätsforschung

Eine Reihe von Fragen aus der Medizinischen Mikrobiologie konnte in den letzten Jahren durch die Anwendung von gentechnischen Methoden neu gestellt und teilweise beantwortet werden. Einige der dabei verwendeten Methoden sind in Tabelle 3.8 zusammengefaßt. Erstmals ist es mit Hilfe dieses neu etablierten molekularbiologischen Methodenbestecks möglich, Pathogenitätsfaktoren von Bakterien kausal zu analysieren.

Zum einen können Pathogenitäts-assoziierte Gene kloniert und charakterisiert werden. Rekombinante Plasmide, die solche Gene tragen, können in nicht-virulente Bakterienstämme eingeführt werden, um den spezifischen Beitrag der entsprechenden Determinanten zur Virulenz der Stämme einschätzen zu können. Weiterhin ist es möglich, Pathogenitäts-assoziierte Gene, die auf dem Chromosom oder auf Plasmiden von Wildstämmen lokalisiert sind, durch Transposons oder durch die Einführung von spezifischen Mutationen zu inaktivieren und so **isogene,** d.h. genetisch identische **Stämme** zu konstruieren, die nur in dem veränderten Locus differieren. Mit Hilfe dieser und ähnlicher Ansätze ist es gelungen, Pathogenitätsfaktoren verschiedener gram-negativer und gram-positiver Bakterien zu identifizieren und deren Gene zu charakterisieren. Durch die Methodik der DNA-Sequenzierung und eine anschließende ortsspezifische Mutagenese ergeben sich neue Möglichkeiten bei der Analyse von Struktur-Wirkungsbeziehungen verschiedener Patho-

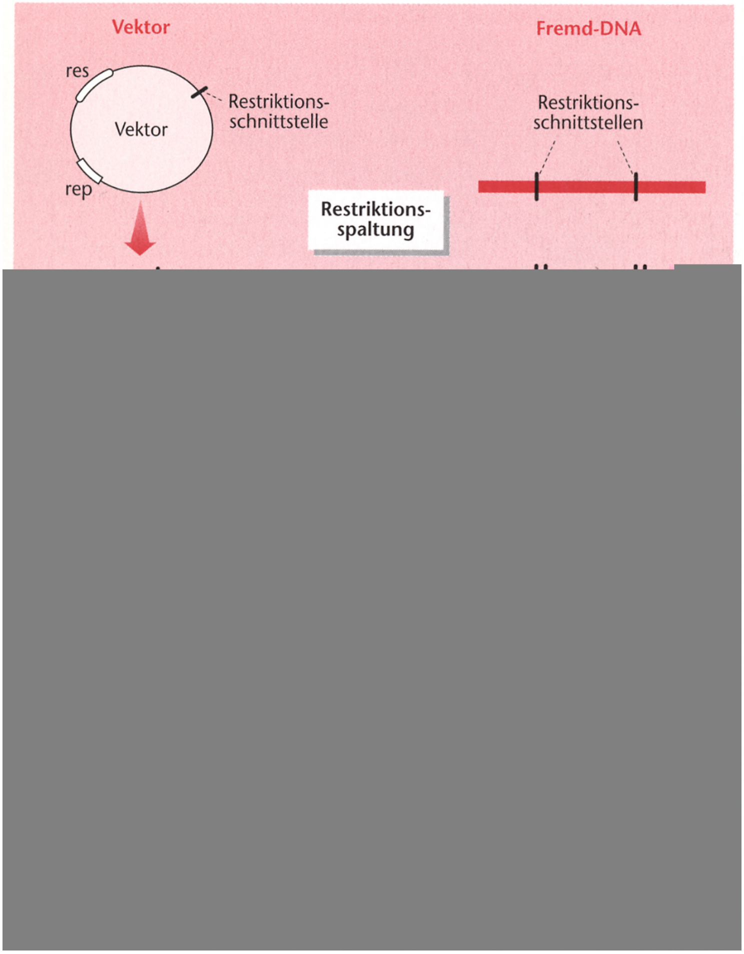


Abb. 3.28 Das Prinzip der Genklonierung; *res*, Resistenzgen; *rep*, Replikationsregion.

eröffnet die Möglichkeit, neue virulenzassoziierte Gene nachzuweisen und die Wirkung der Produkte zu studieren. Neue *In-vivo*-Expressionsysteme (DFI, IVET) bzw. Mutagenesestrategien (STM) machen zunehmend die Identifizierung von mikrobiellen Faktoren möglich, die spezifisch nur während einer Infektion, also *in vivo* aktiv sind.

Gentechnik und Medizinische Mikrobiologie

Auch für praktische Belange der Medizinischen Mikrobiologie spielen gentechnische Methoden heute eine wichtige Rolle. Einige der in Frage kommenden Verfahren sind in Tabelle 3.9 zu-

Tab. 3.8 Molekulargenetische Verfahren zur Analyse von pathogenen Mikroorganismen

Verfahren	Anwendung
Transposonmutagenese, Mutantenanalyse	Identifizierung, Charakterisierung von Virulenzgenen
repräsentative Differenz-Analyse (RDA)	Identifizierung von Virulenzgenen
mRNA „differential display“ (dd)	Identifizierung von Transkripten
differential fluorescence induction (DFI) technology	Identifizierung von *in vivo* aktiven Promotoren
in vivo expression technology (IVET)	Identifizierung von *in vivo* exprimierten Genen
signature tagging mutagenesis (STM)	Identifizierung von *in vivo* essentiellen Genprodukten

Antibiotikum A (mg/l)

Tab. 3.11 In vitro Bestimmung der antibakteriellen Wirkung von Antibiotika

Methode	Prinzip, Meßgröße	Besonderheiten
Verfahren mit Endpunktbestimmung Die Beurteilung erfolgt anhand eines Meßwertes, der erst am Ende der Bebrütungszeit erfaßt wird.		
Reihenverdünnungstest, RVT	geometrische Verdünnungsreihe des Wirkstoffes Minimale Hemmkonzentration, MHK, engl. MIC[1]: niedrigste Wirkstoffkonzentration mit vermehrungshemmender (bakteriostatischer) Wirkung. Minimale bakterizide Konzentration, MBK, engl. MBC[2]: niedrigste Konzentration, welche die eingesäte Bakterienzahl (z.B. 5×10^5 KBE/ml) um mindestens 99,9% abtötet.	quantitatives Ergebnis; aufwendig: für jeden Wirkstoff ist eine eigene Verdünnungsreihe notwendig. Resultat für schnell wachsende Erreger nach 16stündiger Bebrütung, für langsam wachsende (Anaerobier) nach 48 Stunden bzw. 3–4 Wochen *(Mycobacterium tuberculosis).* Bestimmen der Zahl der überlebenden Bakterien in Kulturen mit Antibiotika-Konzentrationen in Höhe der MHK und darüber; Dauer bis zum Ergebnis doppelt so lang wie bei der MHK-Bestimmung.
Agardiffusionstest, ADT, Blättchentest	Radiale Diffusion vom Wirkstoffträger in den beimpften Agarnährboden. Der Durchmesser des Hemmhofs im Bakterienrasen ist Maß für die Empfindlichkeit des Stammes.	Resultate müssen mit denen des Reihenverdünnungstests korrelieren. Strikte Standardisierung der Testbedingungen notwendig (u.a. Dichte des Bakterienrasens, Zusammensetzung und Schichthöhe des Nährbodens, Bebrütungsdauer und -temperatur, aktive Konzentration des Wirkstoffes auf dem Blättchen).
Verfahren mit Verlaufsbeobachtung Für die Beurteilung werden Meßwerte zu verschiedenen Zeitpunkten im Verlauf der Exposition erfaßt.		
Bakterizidiekinetik – bei konstanter Wirkstoffkonzentration	nach Zugabe eines Antibiotikums zur beimpften Nährlösung wird die Zahl der vermehrungsfähigen Bakterien in verschiedenen Zeitabständen (meist 2, 4, 6, 8, 24 Stunden) bestimmt.	erfaßt Abtötegeschwindigkeit und Verlauf bei gleichbleibender Konzentration des Antibiotikums. Für jede Konzentration (zumeist MHK und Vielfache davon) ist ein eigener Testansatz erforderlich.
– bei variabler Wirkstoffkonzentration	Flüssigkeitskulturen werden variablen Wirkstoffkonzentrationen ausgesetzt und – wie oben – nach der Überlebenskinetik der Bakterienpopulation analysiert.	bezieht die Pharmakokinetik in die in-vitro-Analyse ein. Wirkstoffkonzentrationsverläufe (z.B. im Serum) werden in der Kultur des Teststammes reproduziert. Bakterizidiekinetik verschiedener Dosierungen und Dosierungsintervalle in Relation zur MHK eines Stammes erfaßbar. Wichtiger pharmakodynamischer Parameter für die präklinische Charakterisierung neuer Antibiotika.

[1] minimum inhibitory concentration
[2] minimum bactericidal concentration

biotikum im Erreger die Synthese einer β-Laktamase induziert, welche den β-Laktam-Ring des zweiten Antibiotikums spaltet (Abb. 3.30).
In Antibiotika-Kombinationen kann die Wirkung der beteiligten Einzelsubstanzen gemessen an ihrer Wirkung allein erhöht, vermindert oder unverändert sein. Die Wirkung einer Antibiotika-Kombination läßt sich nicht vorhersagen, sie muß jeweils für den einzelnen Erreger bestimmt werden. Quantifizierbar werden Kombinations-

3

Tab. 3.13 Interpretation eines Antibiogramms

Spezies	Resistenz-Phänotyp	Resistenzmechanismus
S. pneumoniae	Penicillin-R	PBP
H. influenzae	Amoxicillin-R, Augmentan[1]-R	PBP
	Ampicillin-R, Augmentan-S	TEM-1
E. coli	Ampicillin-R, Ceftazidim-S	TEM-1, TEM-2, SHV-1
	Ampicillin-R, Augmentan-R, Ceftazidim-S	Inhibitor-resistente TEM-1 β-Laktamasen
	Ampicillin-R, Ceftazidim-R, Cefoxitin-S	ESBL
	Ampicillin-R, Ceftazidim-R, Cefoxitin-R	Plasmid-codierte AmpC β-Laktamasen

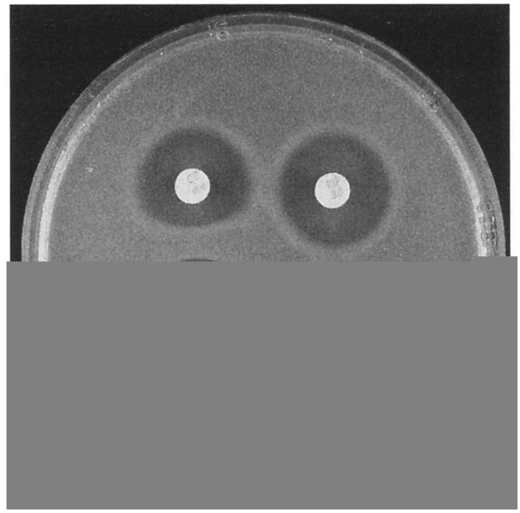
[1] Kombination aus Amoxicillin und Clavulansäure

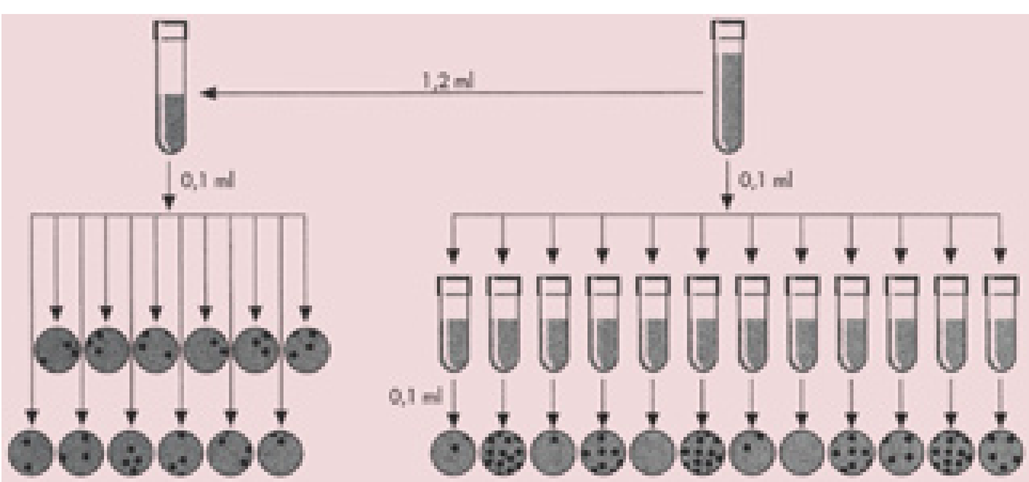
Tab. 3.14 Beispiele für taxon-spezifisches Resistenzverhalten

Spezies oder Genus	Resistenz
Enterococcus spp., *Listeria* spp.	Cephalosporine
Klebsiella spp.	Aminopenicilline
Proteus mirabilis	Tetrazykline
Stenotrophomonas maltophilia	Carbapeneme
Burkholderia spp., *S. maltophilia*	Aminoglykoside
Burkholderia spp., *Proteus* spp.	Colistin
Providencia spp., *Serratia* spp.	

nismen um den Standort zu. Dabei sollen die Abwehrfunktionen nicht dem Produzenten selbst schaden. Für diesen Selbstschutz wurden Resistenzmechanismen entwickelt. Die Resistenzgene sind im Verlauf der Evolution durch horizontalen Transfer auf andere Spezies übergegangen und dort zu stabilen Bestandteilen des Genoms geworden. Sie schützen diese Organismen vor Antibiotika, wobei der Aufwand (costs of fitness) für die Expression des Resistenzmechanismus häufig am Bedarf orientiert wird, und zwar über Mechanismen, mit denen Signale aus dem Milieu rezipiert und in die Zelle

Resistenzentwicklung. Eine antibiotische Therapie kann trotz in vitro Empfindlichkeit des initial isolierten Erregers erfolglos bleiben. Häufigste mikrobielle Ursache ist die Resistenzentwicklung unter Therapie mit Persistenz des Erregers. Dies wird oft nicht abgeklärt, da bei Nichtansprechen auf eine initiale Therapie (klinisch meist nach 2–3 Tagen erkennbar) mit zusätzlichen oder alternativen Antibiotika ohne erneute bakteriologische Analyse weiter therapiert wird. Die Therapie kann aber auch trotz Elimination des ursprünglichen Erregers erfolglos bleiben, wenn ein neuer, die Infektion fort-





1,2 ml
0,1 ml
0,1 ml
0,1 ml

unbeeinflußt passieren und so an die Resorptionsorte im Dünndarm gelangen können. Weiterhin muß die Substanz in gelöster Form vorliegen und ausreichend fettlöslich sein. Die Resorbierbarkeit eines Antibiotikums wird einmal durch seine galenischen Eigenschaften (z.B. Partikelgröße, Löslichkeit) sowie physiologische oder pathologische Zustände des Patienten (Alter, Magen- und Darmmotilität, gleichzeitige Nahrungsaufnahme) bestimmt. Von Einfluß ist auch die präsystemische Elimination; darunter versteht man die potentielle Metabolisierung eines Arzneimittels in der Darmschleimhaut und/oder der Leber, die vor dem Eintreten in den systemischen Kreislauf stattfindet („first-pass"-Effekt).
Eine weitere wichtige Größe ist die Art der **Verteilung** des Antibiotikums im Organismus. Sie wird im wesentlichen durch 3 Faktoren bestimmt. Zum einen durch die Fähigkeit, in Gewebe zu gelangen bzw. besondere Organschranken wie z.B. die Blut-Hirn-Schranke oder die Plazentarschranke zu passieren und sich passiv oder durch aktiven Transport intrazellulär anzureichern. Diese Eigenschaften hängen wesentlich von der chemischen Struktur der jeweiligen Substanz ab.

bedingt durch Penetrationsfähigkeit und Plasmaproteinbindung ergeben sich für die einzelnen antibiotischen Substanzen zum Teil erhebliche Unterschiede im Verteilungsvolumen von überwiegend intravasal (z.B. Aminoglykoside) bis hin zu überwiegend intrazellulär (z.B. Chinolone).
Schließlich sind Art und Schnelligkeit der **Elimination** wichtige pharmakokinetische Parameter. Die Elimination eines Antibiotikums kann entweder in unveränderter Form erfolgen oder nach vorhergehender Metabolisierung in der Leber. Wichtigstes Eliminationsorgan ist die Niere, über die durch glomeruläre Filtration und/oder tubuläre Sekretion die meisten Antibiotika bzw. ihre Metaboliten ausgeschieden werden. Weiteres Ausscheidungsorgan ist die Leber, aus der viele der gebildeten Metaboliten *via* Galle in den Darm gelangen und dann mit den Fäzes ausgeschieden werden. Das Maß für die Elimination durch den Organismus ist die Clearance (s.o.), für die Geschwindigkeit der Elimination die Halbwertszeit ($t_{1/2}$), die wiederum durch das Verteilungsvolumen und die Clearance festgelegt wird. Bezüglich des *Eliminationsweges* lassen sich drei Typen von Antibiotika

ren diese Substanzen in direkter Abhängigkeit von der Nierenfunktion. Zum **Typ 2** (Chloramphenicol-Typ) gehören die Antibiotika, die nahezu völlig metabolisiert und nur ganz gering in unveränderter Form ausgeschieden werden. Diese Substanzen können unabhängig von der Nierenfunktion dosiert werden, sind aber problematisch bei starken Leberfunktionseinschränkungen. Substanzen vom **Typ 3** (Nitrofurantoin-Typ) erreichen keine bedeutenden Plasmaspiegel, werden aber in hoher Konzentration im Urin ausgeschieden. Auch diese Substanzen kumulieren natürlich bei Nierenfunktionsstörung. Art und Geschwindigkeit der Elimination eines Antibiotikums sind praktisch einmal mitentscheidend für die Festlegung von Dosis und Applikationsintervall und entscheiden andererseits darüber, wann bei welcher Organfunktionseinschränkung – Niere und/oder Leber – eine Anpassung zu erfolgen hat (s. Kap. 3.5.7).

Pharmakodynamische Prinzipien

Erst in jüngerer Zeit rücken vermehrt pharmakodynamische Gesichtspunkte bei der antibakteriellen Chemotherapie in den Blickpunkt. Pharmakodynamik beschreibt die Beziehung

de dagegen als Einmalgabe gegeben werden können.

Ein weiteres wichtiges pharmakodynamisches Prinzip betrifft den **postantibiotischen Effekt (PAE)** einer Substanz. Hierunter versteht man die fortdauernde Wachstumshemmung eines Bakteriums über den Zeitpunkt hinaus, wo noch meßbare Konzentrationen der Substanz nachweisbar sind. Der PAE ist für die jeweiligen Antibiotika bezogen auf eine bestimmte Erregerart vorhanden oder nicht bzw. unterschiedlich lang. So haben Penicilline und Cephalosporine keinen PAE auf gramnegative Bakterien, dafür aber Carbapeneme, Aminoglykoside und vor allem Fluorochinolone. Für praktische Belange hat daher die Dauer des PAE auch einen Einfluß auf das Dosierungsintervall (z.B. Einmaldosierung von Aminoglykosiden).

Nebenwirkungen

Jede Gabe von Antibiotika ist auch mit dem potentiellen Risiko von Nebenwirkungen verbunden.

Man unterscheidet dabei Nebenwirkungen, die auf ihrer Hauptwirkung beruhen von solchen.

digungen mit starken Schmerzen bei zu schneller i.v.-Applikation eines Antibiotikums. In diese Kategorie gehört auch das Auftreten von Gewebsnekrosen durch falsche, paravasale Injektionen. Klassisches Beispiel für chronisch-kumulativ-toxische Schädigungen sind die Beeinträchtigung von Gleichgewichtsorgan und Innenohr nach zu langer Aminoglykosidgabe. Toxische Schädigungen können also sowohl lokal als auch systemisch auftreten. Eine weitere Unterscheidung der toxischen Nebenwirkungen ergibt sich daraus, ob die Schädigung reversibel oder irreversibel ist. So ist eine Knochenmarksdepression mit vorübergehender Leukopenie und/oder Thrombopenie fast immer nach Absetzen des Antibiotikums reversibel, während eine Innenohrschädigung durch Aminoglykoside mit einem dauerhaften Hörverlust verbunden sein kann. In der Tab. 3.17 sind häufige Nebenwirkungsmöglichkeiten und Beispiele für verursachende Substanzen aufgeführt. Zu beachten ist, daß bestimmte Patientengruppen von vornherein stärker in Richtung toxischer Nebenwirkungen gefährdet sind. Hierzu gehören einmal Patienten, die schon physiologi-

dosisabhängig, setzt aber die vorherige Sensibilisierung voraus. Allergische Nebenwirkungen sind unabhängig von der Hauptwirkung und kommen durch eine spezifische Immunantwort bei entsprechend sensibilisierten Patienten zustande, frühestens nach einer Latenzzeit von 1–2 Wochen nach der Erstexposition. Aufgrund der beteiligten Immunmechanismen werden 4 Typen allergischer Reaktionen unterschieden (Tab. 3.18). Da allergische Wirkungen nicht wirkstoffspezifisch sind, können sie durch strukturell verwandte Verbindungen ausgelöst werden (partielle oder absolute Kreuzallergie). Da viele antibiotische Substanzen zumindest als Grundsubstanz Naturstoffe sind, kann die notwendige Sensibilisierung auch durch Kontakt mit dem Naturstoff erfolgen, muß also nicht Folge einer früheren Antibiotikagabe sein (z B.

Tab. 3.18 Allergische Nebenwirkungen von Chemotherapeutika

Allergietyp	Manifestation
Typ I (Reagintyp)	Rötung, Schwellung, Urtikaria, Ödeme incl. Glottisödem, abdominelle Angina, Bronchospasmus, Hemikranie, anaphylaktischer Schock
Typ II (zytotoxischer Typ)	Leukopenie, hämolytische Anämie, thrombozytopenische Purpura
Typ III (Serumkrankheitstyp)	Serumkrankheit, vaskuläre Purpura
Typ IV (Spättyp)	Kontaktekzem, Photoallergie

Typ I–III: humoral-vermittelte Frühreaktionen;
Typ IV: zellulär-vermittelt

Biologische Nebenwirkungen
Biologische Nebenwirkungen beruhen auf unerwünschten Effekten der Hauptwirkung, also der antibakteriellen Wirkung von Antibiotika. Jede Antibiotikagabe ist mit einer mehr oder weniger starken **Beeinflussung** der **Normalflora** verbunden. Folge ist die zumindest partielle und zeitweise Reduktion der Normalflora und das isolierte Überwuchern resistenter Keimarten der jeweiligen Standortflora. Da die Normalflora z.B. durch die Produktion inhibitorischer Substanzen eine Rolle in der antiinfektiösen Barrierefunktion von Haut- und Schleimhäuten spielt, kann es zur Kolonisierung mit fakultativ-pathogenen Bakterien, Pilzen und Viren kommen. Klinisch manifestieren sich diese Nebenwirkungen z.B. als Soorkrankheit von Mund und Vagina, orale Aphthosis ulcerosa oder schwere Sekundärinfektionen wie eine Candidapneumonie. Eine solche Nebenwirkung ist auch die **Antibiotika-assozierte Pseudomembranöse Kolitis** (AAPC).

Unter oder nach Antibiotikatherapie kommt es zu

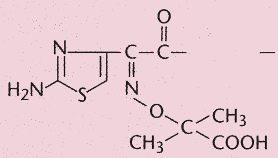
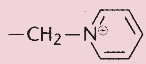
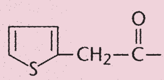
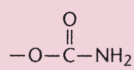
Penicilline (Pename)
Derivate der *6-Aminopenicillinansäure* mit dem fünfgliedrigen Thiazolidin-Ring mit einem Schwefel- (thia-) und einem Stickstoff- (azo-) Atom. Derivatisierung durch unterschiedliche Azylreste an C_6 (Tab. 3.19).

Cephalosporine (Cepheme)
Grundstruktur ist die 7-Aminocephalosporansäure mit dem sechsgliedrigen Dihydrothia-

β-Laktamasen, vermindert aber zugleich wegen seiner ungesättigten Bindung zwischen den C-Atomen 2 und 3 die chemische Stabilität der Cephalosporine (s. Abb. 3.34). Gegenüber den Penicillinen sind Derivatisierungen zusätzlich zur Acylierung der Aminogruppe an C_7 (R_1) auch noch am C_3-Atom (R_2) möglich. So entstand die im Vergleich zu den Penicillinen größere Substanzvielfalt der Cephalosporine. Eine Methoxy-Gruppe (CH_3-O) am Kohlenstoffatom

3

Tab. 3.19 *(Fortsetzung)*

chem. Kurz-bezeichnung	Substituent in R1	R2	antibakterielles Spektrum	besondere Eigenschaften
Ceftazidim			Cephalosporin mit der höchsten Aktivität gegen *P. aeruginosa*	
Cefoxitin			wie Cefuroxim, hohe Aktivität gegen Anaerobier	erstes 7-α-Methoxy-Cephalosporin (Cephamycin); induziert die Synthese von β-Laktamasen

die β-Laktamase-Festigkeit (*Cephamycine*, z.B. Cefoxitin, Cefotetan).
Die Bedeutung dieser zweiten großen Gruppe der β-Laktam-Antibiotika liegt in der im Vergleich mit den Penicillinen insgesamt höheren Aktivität pro Gewicht und dem breiteren Spektrum. Alle Cephalosporine sind jedoch – im Gegensatz zu Penicillinen – inaktiv gegen Enterokokken, Listerien und *Bordetella pertussis* (s. Tab. 3.19).

Carbapeneme
Bei Carbapenemen ist der endozyklische Schwefel durch ein Kohlenstoffatom ersetzt (vgl. Abb. 3.34). Wichtige Vertreter sind das *Thienamycin* sowie das *Meropenem* (Abb. 3.35). Thienamycin

Funktion die Spaltung der filtrierten Oligopeptide in rückresorbierbare Aminosäuren zu. Imipenem wird nur in Kombination (1:1) mit einem Dehydropeptidase-Inhibitor, dem Cilastatin, appliziert. Cilastatin verlängert die Eliminationshalbwertszeit des Imipenems auf etwa 60 Minuten, erhöht seine Urinwiederfindungsrate und neutralisiert weitgehend die Nephrotoxizität des reinen Imipenems.
Meropenem ist ein Carbapenem, das ohne Dehydropeptidase-Inhibitor hinreichend stabil ist.
Carbapeneme sind im Vergleich mit der Mehrzahl anderer β-Laktame stabil gegen β-Laktamasen und traversieren zudem die äußere Membran deutlich besser. Dementsprechend ist ihr Wirkspektrum breiter. Wenig empfindlich sind



3

daher „versehentlich" an das aktive Zentrum der Enzyme gebunden. β-Laktamase-Inhibitoren hemmen die Mehrzahl der Plasmid-codierten β-Laktamasen (s. Tab. 3.20, Gruppe 2b, 2be), sind aber nur wenig aktiv gegen AmpC β-Laktamasen (Gruppe 1a, 1b). Derzeit sind als β-Laktamase-Inhibitoren verfügbar: *Clavulansäure* in Kombination mit Amoxycillin oder Ticarcillin, *Tazobactam* in Kombination mit Piperacillin und *Sulbactam* in Kombination mit Ampicillin. Sulbactam steht auch zu freier Kombination zur Verfügung. Da sie selbst über keine relevante antibakterielle Aktivität verfügen, werden sie nur zusammen mit β-Laktam-Antibiotika eingesetzt.

Resistenzmechanismen

Resistenz durch β-Laktamasen

Häufigste Ursache der Resistenz gegenüber β-Laktam-Antibiotika ist deren hydrolytische Inaktivierung durch β-Laktamasen. Bakterien produzieren eine große Vielfalt von β-Laktamasen. Sie werden unterschieden nach ihrer Aktivität gegenüber verschiedenen β-Laktam-Antibiotika (Substratprofile, zumeist charakterisiert als relative Hydrolyserate mit Penicillin G oder Cephaloridin als Bezugssubstraten), ihrer Hemmbarkeit durch β-Laktamase-Inhibitoren, der Induzierbarkeit ihrer Synthese, der Lokalisation des β-Laktamase-Gens in der Zelle (chromosomal oder plasmidisch), chemischen Merkmalen (Molekulargewicht, isoelektrischer Punkt) oder ihrer spezifischen Aminosäuresequenz. Durch Vergleich der Aminosäuresequenz sowie der Raumstruktur der reifen, gefalteten Enzyme lassen sich β-Laktamasen in vier molekulare Klassen einteilen. Drei darunter (A, C und D) haben Serin im aktiven Zentrum, während bei β-Laktamasen der Gruppe B Zink anstelle von Serin im aktiven Zentrum steht (Metallo-Enzyme). Eine Klassifizierung, die sowohl molekulare Struktur als auch funktionale Eigenschaften integriert, gibt Tab. 3.20.

β-Laktamasen bei Gram-positiven. Hier haben die Penicillinasen der Staphylokokken (Gruppe 2a) die größte Bedeutung erlangt. Bei durchschnittlich 80% der nosokomialen Infektionen mit *S. aureus* muß auf die Penicillinase-stabilen Isoxazolylpenicilline (z.B. Oxacillin) oder auf Cephalosporine ausgewichen werden.

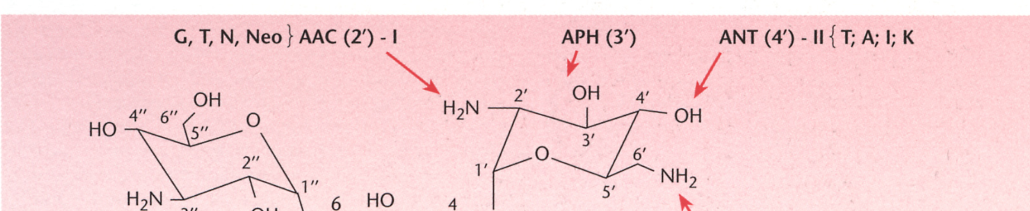
β-Laktamasen bei Gram-negativen. Bei gram-negativen Spezies ist die Vielfalt der β-Laktamasen wesentlich größer. Bisher wurden über 200 verschiedene charakterisiert. Unter ihnen haben β-Laktamasen der Klasse 1 (AmpC-Enzyme z.B. bei *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Morganella morganii*, *P. aeruginosa*) und der Klasse 2b (TEM- sowie SHV-Enzyme – häufig bei *K. pneumoniae*, *E. coli*, TEM-1 zusätzlich bei *Haemophilus influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*) die größte Verbreitung und therapeutische Relevanz. Die PSE- (*Pseudomonas*-specific enzymes) sind ebenso wie die OXA-β-Laktamasen neben denen der Klasse 1 unter β-Laktam-resistenten *P. aeruginosa*-Stämmen häufig. Carbapenemase-produzierende Stämme sind ein charakteristisches Merkmal für *S. maltophilia*, dagegen unter *Enterobacteriaceae* bisher selten.

Die Raumstruktur einer β-Laktamase der A-Klasse (TEM-1) läßt eine rein helikale Domäne und eine gemischte Domäne aus β-Faltblättern (5, antiparallel), die von α-Helices umgeben sind, erkennen (Abb. 3.36, Farbtafeln). Das aktive Zentrum mit Serin in Position 70 findet sich am N-Terminus der Helix 2. Zwischen ihm und dem B3-Faltblatt liegt die Oxyanion-Tasche, in der das Substrat (hier Cefotaxim) in einer für seine Hydrolyse optimalen Position fixiert wird. Beispiele für Austausche von Aminosäuren im TEM-1 Enzym sind mit der Numerierung ihrer Position angegeben.



Abb. 3.36 Tertiärstruktur einer Klasse A-β-Laktamase (TEM) (aus: Knox, Antimicrobial Agents Chemother. *39* (1995) 2593–2601; verändert).

Diese Mutationen wurden in *bla*-Genen von Erregern cillin-Resistenz bedeutet zugleich Resistenz gegen-



zusätzlich die äußere Membran. Initial werden Aminoglykoside bei Gramnegativen an positive Ladungen der Lipopolysaccharide, der outer-membrane-Proteine oder der Phospholipide gebunden. Von dort werden sie mit Hilfe eines von den Aminoglykosiden selbst ausgelösten Mechanimus durch die äußere Membran transportiert. Dabei verdrängen die stark positiv geladenen Aminoglykoside Mg^{2+}-Ionen aus ihrer Brückenbildung zwischen benachbarten LPS-Molekülen. Dadurch erhöht sich die Durchlässigkeit der Zytoplasmamembran. Die unterschiedliche Wirkung desselben Aminoglykosids bei verschiedenen Spezies (z.B. *E. coli*, *P. aeruginosa*) konnte auf Abweichungen in der Zusammensetzung der LPS-Phosphate oder Proteine in der äußeren Membran zurückgeführt werden.

Der Transport der Aminoglykoside durch die Zytoplasmamembran erfordert Energie. Er erfolgt aktiv (energieabhängig) mit Hilfe von Aminoglykosid-Transportproteinen und wird von Anaerobiose, niedrigen pH-Werten, divalenten Kationen, Polyaminen und Chloramphenicol beeinträchtigt. Transportdefiziente Erregergruppen wie Anaerobier, Enterokokken, Streptokokken, sind nur vermindert empfindlich bzw. resistent gegen Aminoglykoside. Transportdefiziente Mutanten sind häufig wachstumsverzögert und nur zur Ausbildung von Zwergkolonien befähigt (z.B. small colony variants von *S. aureus*).

Enzymatische Veränderung (Modifikation)

Die Inaktivierung erfolgt durch Addition eines Acetylrestes (N-Acetylierung) an eine Aminogruppe oder eines Nucleotid- (O-Nucleotidylierung) oder Phosphatrestes (O-Phosphorylierung) an eine Hydroxylgruppe des Aminoglykosid-Moleküls. Die Aminoglykoside können so während der Passage durch die Zytoplasmamembran noch vor dem Erreichen ihrer Zielstruktur am Ribosom inaktiviert werden.

Für jede dieser Modifikationen gibt es unterschiedliche Enzyme, die jeweils bestimmte Amino- oder Hydroxylgruppen modifizieren. Die Aminoglykosid-modifizierenden Enzyme werden nach dem Typ der Modifikation und der Position benannt, an welcher sie erfolgt. Da dieselben Modifikationen bei unterschiedlichen Aminoglykosiden von mehreren Enzymen aus-

erhöhte Wirksamkeit gegen *Pseudomonas* spp. auf, Netilmicin gegen Staphylokokken, und Amikacin hat die Bedeutung eines „Reserve"-Aminoglykosids. Sie sind nur schwach aktiv gegen Streptokokken und inaktiv gegenüber Anaerobiern.

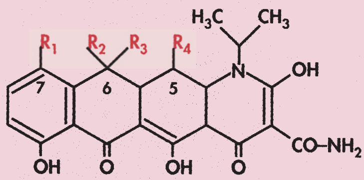
Die vorherrschende Verwendung von Aminoglykosiden ist die Kombination mit anderen Antibiotika, zumeist mit β-Laktamen. Damit wird das Risiko der Resistenzentwicklung unter der Therapie verhindert oder vermindert, zudem kann ein Synergismus der Kombinationspartner erreicht werden (z.B. wirkt Penicillin plus Gentamicin häufig synergistisch und bakterizid gegen Enterokokken und ist damit wirksam bei Enterokokken-Endocarditis; ähnliches gilt für Staphylokokken und Streptokokken). Aminoglykoside sind in erhöhter Konzentration toxisch für Niere, Gehör- und Gleichgewichtsorgan. Entscheidend ist hier die chronisch-kumulative Toxizität, nicht der akut hohe Serumspitzenspiegel wie früher angenommen. Deshalb können sie einmal täglich appliziert werden. Das Bestimmen der Aminoglykosidkonzentrationen im Serum des Patienten ist bei eingeschränkter Nierenfunktion indiziert, um nach Wirkung und Nebenwirkungen optimal zu dosieren (geringe therapeutische Breite, d.h. kleiner Konzentrationsabstand zwischen wirksamer und toxischer Konzentration).

Tetrazykline

Ihr Grundgerüst besteht aus vier fusionierten 6er Kohlenstoffringen (Hydronaphthazen) (Abb. 3.38).

Wirkungsmechanismus

Tetrazykline binden reversibel (bakteriostatischer



	R_1	R_2	R_3	R_4
Tetracyclin	H	CH_3	OH	H
Minocyclin	$N(CH_3)_2$	H	H	H
Doxycyclin	H	CH_3	H	OH

Abb. 3.38 Tetrazyklin-Grundgerüst.

zyklin durch in die Zytoplasmamembran integrierte Effluxpumpen, der häufigste Mechanismus bei *Enterobacteriaceae*, durch Ausschluß der Bindung an die Ribosomen (ribosomal protection), z.B. bei Neisserien, *Haemophilus*, Mykoplasmen, Ureaplasmen, oder durch Modifizierung der Tetrazyklinstruktur zu einem inaktiven Produkt bei *Bacteroides* spp.

Wirkspektrum
Es umfaßt aerobe und anaerobe gram-positive und gram-negative Arten, auch intrazelluläre Erreger wie Chlamydien, Mykoplasmen, Rickettsien, Borrelien, *Mycobacterium marinum*. Bei fast allen Spezies treten resistente Stämme auf. Häufig oder immer (natürlich) resistent sind *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, Enterokokken. Tetrazyklin-Resistenzgene liegen überwiegend auf Plasmiden oder Transposons.
Die Tetrazyklin-Derivate unterscheiden sich nur wenig in ihrer antibakteriellen Aktivität, sondern hauptsächlich in ihrer Pharmakokinetik bei oraler Gabe: niedrigere Resorption von Tetrazyklin (30%), höhere von Doxyzyklin (80%), vollständige von Minozyklin; Eliminationshalbwertszeiten zwischen 6 Stunden (Chlortetrazyklin) und 18 Stunden (Doxyzyklin). Die Exkretion erfolgt renal, ausgenommen Doxyzyklin mit überwiegend hepatischer Ausscheidung (bei Niereninsuffizienz verwendbar). Charakteristische Nebenwirkungen des Tetrazyklins sind gastrointestinale Störungen, Photosensibilisierung, Zahndekolorisierung (deshalb erst ab 8 Jahren empfohlen).

Chloramphenicol

Chloramphenicol (Abb. 3.39) wurde ursprünglich aus *Streptomyces venezuelae* isoliert, wird heute aber totalsynthetisch hergestellt.

Wirkungsmechanismus
Chloramphenicol blockiert die Bindung der Aminoacyl-tRNA. Die Aminosäuren können nicht mehr an die Peptidtransferasen fixiert werden, die Peptidsynthese wird abgebrochen.

Resistenzmechanismen
Resistenzmechanismen sind verminderte Permeation oder Acetylierung zum inaktiven Diacetyl-Chloramphenicol. Die Gene für die Acetyl-Transferase sind auf R-Faktoren lokalisiert, oft mit dem Gen für Ampicillin-Resistenz gekoppelt. Daher auch heute trotz nur noch seltener Verwendung von Chloramphenicol z.T. noch hohe Resistenzquoten.

Wirkspektrum
Therapeutisch wichtig ist die Aktivität gegenüber den häufigsten Erregern von Meningitis im Kindesalter (*H. influenzae*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*). Die Therapie mit Chloramphenicol ist aufgrund seiner hämatologischen Nebenwirkungen (reversible Knochenmarksdepression, selten irreversible aplastische Anämie) und häufig auftretender Resistenz auf wenige Indikationen eingeschränkt wie Hirnabszeß (Anaerobierwirkung) und Meningitis (hohe Liquorgängigkeit). Bei Typhus sowie Paratyphus A und B wurde es inzwischen von den Chinolonen (Ciprofloxacin) abgelöst.

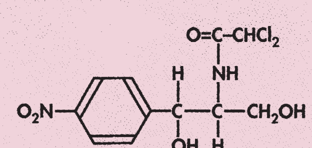


Abb. 3.39 Chloramphenicol.

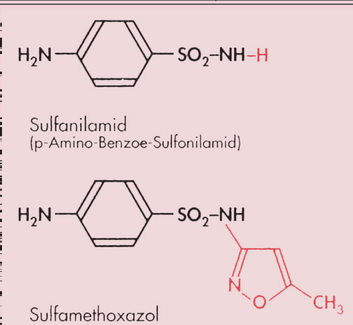
Trimethoprim und Kombinationen mit Sulfonamiden

Trimethoprim ist ein vollsynthetisches, als Naturstoff nicht bekanntes Pyrimidinderivat (Abb. 3.40).
Sulfonamide sind vollsynthetische Amide aromatischer Sulfonsäuren (s. Abb. 3.40).

Wirkungsmechanismus

Trimethoprim inhibiert die Dihydrofolatreduktase

bei gleichzeitiger Empfindlichkeit gegenüber beiden Partnern (95%), bei nur Sulfonamid-resistenten Stämmen 60%, bei nur Trimethoprim-resistenten Stämmen 45% und bei Resistenz gegenüber beiden Partnern in etwa 10%. Die optimale Konzentrationsrelation liegt bei einem Teil Trimethoprim auf 19 Teile Sulfonamid.
Für Sulfonamide allein gibt es kaum noch therapeutische Indikationen wegen häufiger Resistenz und unerwünschter Nebenwirkungen. Sie



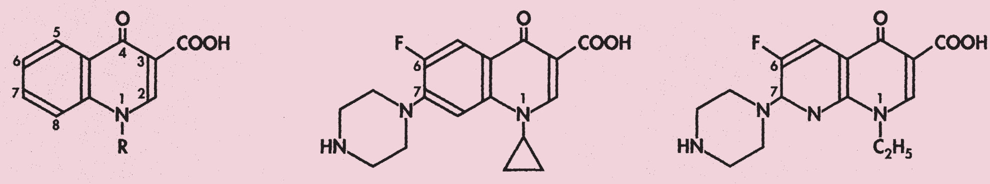


Abb. 3.41 4-Chinolone.

(Parallelresistenz) sowie unerwünschten Nebenwirkungen chemisch ungenau ebenfalls den Chinolonen zugeordnet (z.B. Nalidixinsäure und Trovafloxacin).
Die **Nalidixinsäure,** die erste therapeutisch bedeutsame Substanz dieser Gruppe (1962), ist unwirksam gegen grampositive Erreger und *P. aeruginosa* und aufgrund geringer Gewebepenetration nur für die Therapie unkomplizierter Harnwegsinfektionen brauchbar. Seither wurden zahlreiche Modifikationen der Grundstruktur durchgeführt zur Verbreiterung des antibakteriellen Spektrums, zur Verbesserung der Aktivität (pro Gewicht) und der Pharmakokinetik (Gewebegängigkeit, Eliminationshalbwertszeit, die Einmalgabe pro Tag zuläßt) sowie zur Verminderung unerwünschter Wirkungen. Unter den in den vergangenen 35 Jahren erprobten Substitutionen erwiesen sich als besonders effektiv die Addition eines Fluoratoms (*Fluoro*-chinolone) in Position 6 (erhöhte Aktivität gegen gramnegative Stäbchen und grampositive Kokken, Norfloxacin, 1980), eines Cyclopropyl-Ringes in Position 1 (verstärkte Aktivität gegen *P. aeruginosa*, Ciprofloxacin, 1983) und verschiedene Substituenten in Position 7 (weitere Steigerung der Aktivität gegen grampositive Kokken, verlangsamte Elimination, verminderte Effluxierbarkeit bei bizyklischen Resten) (vgl. Tab. 3.21). Durch eine Methoxy-Gruppe an X_8 anstelle eines Chlors konnte die photosensibilisierende Wirkung vermindert werden.

Wirkungsmechanismus

Zur Replikation der DNA müssen die ineinander verwundenen Stränge des zirkulären bakteriellen Chromosoms aufgedreht werden. Dies würde ein positives Überspiralisieren im Bereich des Replikationspunktes verursachen und die Fortsetzung des Replikationsvorganges blockieren. Das verhindert die DNA-Gyrase, eine Topoisomerase. Topoisomerasen sind Enzyme, welche die räumliche Beziehung der DNA-Stränge zueinander ordnen. Sie durchschneiden dazu einen (Typ I) oder beide (Typ II) Stränge der DNA und führen einen anderen Abschnitt des DNA-Doppelstranges durch die Schnittstelle (Abb. 3.42). Dieser wird für die Dauer des Vorgangs fixiert, so daß die Enden nicht frei rotieren können. Nach dem Durchführen der DNA wird die Schnittstelle wieder geschlossen.

Die Gyrase A-Untereinheit (GyrA) ist neben der ParC-Untereinheit der Topoisomerase IV Angriffspunkt der Chinolone. Sie binden an die ungepaarten Basen im Anschluß an den Doppelstrangschnitt. Dort verhindern sie das Wiederversiegeln der Schnittstelle und die weitere Funktion der Gyrase durch deren Einschließen in eine kovalente Bindung aus Enzym und DNA.

Resistenzmechanismen

Mechanismen für bakterielle Chinolon-Resistenz bei Gramnegativen beruhen auf mutativen Veränderungen der DNA-Gyrase oder der Topoisomerase IV (Tab. 3.22) sowie erhöhtem Efflux der Chinolone oder verminderter intrazellulärer Akkumulation.

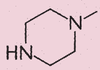
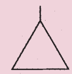
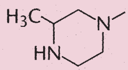
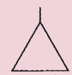
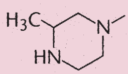
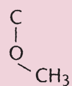
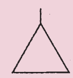
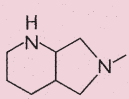
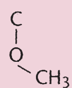
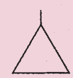
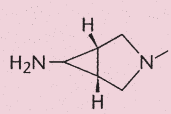
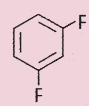
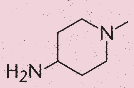
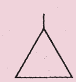
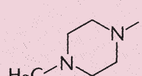
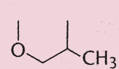
Veränderungen der Typ I Topisomerase

Die Aminosäure-Austausche mit Resistenzfolge liegen gehäuft in den „quinolone resistance determining regions" (QRDR) der Gyrase und der Topoisomerase IV. Für die Chinolon-Resistenz sind bei gramnegativen Erregern primär Mutationen im *gyrA*-Gen, bei grampositiven hingegen im *parC*-Gen entscheidend.

Verminderte Aufnahme der Chinolone

Auf dem Weg zu ihrem Angriffspunkt, der DNA-Gyrase im Zytoplasma, müssen die Chinolone die Zytoplasmamembran traversieren, bei Gramnegativen zusätzlich die äußere Membran. Dies erfolgt entweder passiv durch Diffusion, wobei Chinolone ähnlich wie Aminoglykoside sich selbst die Passage erleichtern, indem sie die Durchlässigkeit der Zytoplasmamembran durch Herauslösen der für die Geschlossenheit der Lipopolysaccharid-Struktur notwendigen divalenten Kationen erhöhen (self-promoted uptake). Daneben nutzen Chinolone den Weg durch Porin-Proteine, insbesondere des OmpF, in die Zelle. Bei fehlendem OmpF ist die Aufnahme hydrophiler Chinolone (z.B. bei Ciprofloxacin) auf die Hälfte vermindert. Dadurch erhöht sich die MHK auf das 2–4fache, und da es sich um einen unspezifischen Mechanismus handelt, zugleich auch für Tetrazykline, Chloramphenicol und

Tab. 3.21 Struktur-Modifikationen bei neueren Fluorochinolonen

Substanz	Position R_7	Position X_8	Position R_1
Ciprofloxacin	Piperazinyl 	C-H	Cyclopropyl 
Grepafloxacin[1]	3-Methyl-piperazinyl 	C-H	Cyclopropyl 
Gatifloxacin	3-Methyl-piperazinyl 	Methoxy 	Cyclopropyl 
Moxifloxacin	Diazabicyclo 	Methoxy 	Cyclopropyl 
Clinafloxacin[1]	3-Amino-pyrrolidinyl 	C-Cl	Cyclopropyl 
Trovafloxacin[1]	Azabicyclo 	N	2,4-Difluorophenyl 
Levofloxacin	4-Methyl-piperazinyl 	1-8-Benzoxazin-Brücke 	

[1] zurückgezogen

einige β-Laktam-Antibiotika. Die Expression des *ompF*-Gens wird reguliert entsprechend den Milieubedingungen. Dies erfolgt z.T. über nicht-assoziierte Gene, z.B. marA (multiple antibiotic resistance).

Aktiver Efflux

Zur Chinolon-Resistenz kann das Herauspumpen eingedrungener Moleküle, z.B. bei *K. pneumoniae* oder *S. aureus* beitragen . Der Mechanismus ist im Prinzip derselbe wie für die Sekretion von Proteinen und für die Resistenz gegen Tetrazyklin oder von menschlichen Zellen gegen Zytostatika. Neuere Chinolone mit einer bizyklischen Seitenkette an C_7 (Moxifloxacin, Trovafloxacin, vgl. Tab. 3.20) können aufgrund ihrer Größe nicht mehr effluxiert werden.

Die breite Verwendung der Chinolone, begünstigt durch deren Verfügbarkeit in resorbierbarer Form, erzeugt Selektionsdruck zugunsten resistenter Stämme. Dies zeigt eine Zunahme der Resistenz z.B. von *P. aeruginosa*-Isolaten von 1983 und 1997 gegenüber Ci-

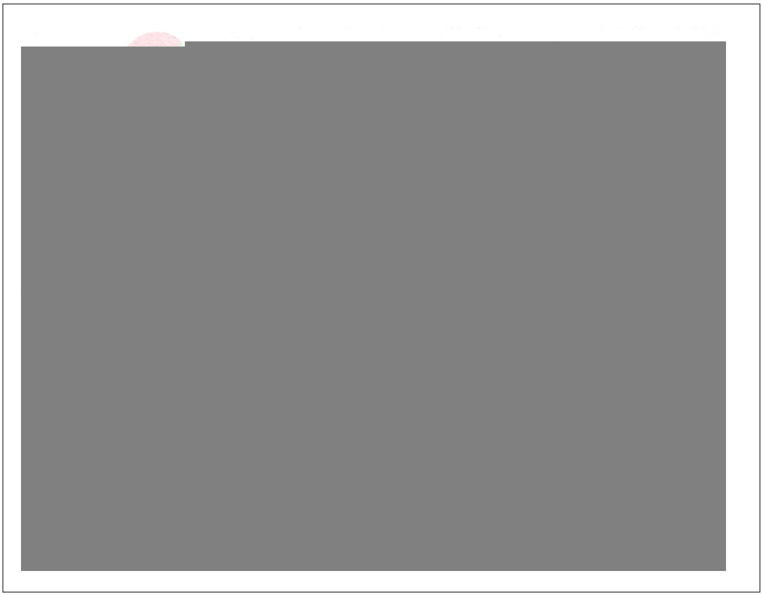


Abb. 3.42 DNA-Gyrase (aus HOOPER und WOLFSON: Quinolone – Antimicrobial Agents. 2nd ed.,1993).

profloxacin von 6,5% auf 36%. Ein ähnlicher Trend ist zu erkennen bei Staphylokokken und neuerdings auch bei *Enterobacteriaceae*. Von besonderer therapeutischer Relevanz ist dabei, daß Chinolon-Resistenz unter Stämmen mit Resistenz gegen andere Antibiotika-Gruppen (wie z.B. β-Laktame) höher ist als bei sensitiven. So z.B. unter *K. pneumoniae*-Isolaten aus noso-

Da bei Hunden irreversible Knorpelschäden stark belasteter Gelenke sowie Schädigungen am Auge beobachtet wurden, ist die Anwendung von 4-Chinolonen vor Abschluß der Knochenbildung und während der Schwangerschaft ausgeschlossen.

Tab. 3.23 Makrolide

Zahl der Atome im Laktonring	Substanz	Stabilität im sauren Magenmilieu	gastrointestinale Nebenwirkungen	Eliminationshalbwertszeit $t_{1/2}$, (Stunden)
14	Erythromycin	instabil, intramolekulare Cyclisierung	häufig	2 (nach 1 g p.o.)
	Clarithromycin	stabil	selten	4.7 (nach 400 mg p.o.)
	Dirithromycin[1]	stabil	selten	20–50 (nach 500 mg p.o.)
	Roxithromycin	stabil	selten	12 (nach 300 mg p.o.)
	Flurithromycin			
15[2]	Azithromycin	stabil	selten	41 (nach 500 mg p.o.)
16	Josamycin	stabil	selten	1,5 (nach 1 g p.o.)

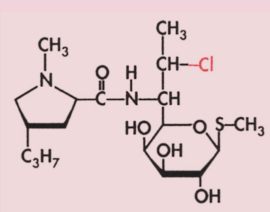
[1] in vivo Spontanhydrolyse zu Erythromycylamin
[2] darunter ein Stickstoffatom, deshalb Azalid

Inaktivierung der Makrolide
Esterasen können Makrolide durch Öffnen des Laktonrings inaktivieren. Esterase-Gene (z.B. *ereA*, *ereB*) können zusammen mit Methylase-Genen im gleichen Stamm auftreten. Sie wirken synergistisch und verleihen besonders hohe Makrolid-Resistenz (gefunden in Enterobakterien nach selektiver Darmdekontamination durch Erythromycin bei neutropenischen Patienten)

sistente Stämme treten unter Staphylokokken, Streptokokken (*S. pyogenes*, *S. pneumoniae*), *Haemophilus*, Listerien, Legionellen und Anaerobiern auf.

Lincosamide

Lincosamide sind Kondensationsprodukte aus



Stämme zwischen 5% und 17%, Resistenz z.T. R-Faktor-vermittelt). Hauptanwendungsgebiete sind Anaerobier-Infektionen oder Mischinfektionen mit Anaerobiern sowie Staphylokokken-Infektionen; hier vor allem Lungen-, Weichteil- und Knocheninfektionen. Die Anwendung von Clindamycin ist beeinträchtigt sowohl durch Resistenzentwicklung als auch wegen des Risikos der selektiven Anreicherung von *Clostridium difficile*, sowohl nach oraler als auch nach parenteraler Applikation mit der Möglichkeit des Auftretens einer Antibiotika-assoziierten Diarrhoe bzw. pseudomembranösen Kolitis.

Streptogramine

Streptogramine sind natürliche Fermentationsprodukte von *Streptomyces pristinaespiralis*. Sie können in zwei Gruppen eingeteilt werden: B-Streptogramine (Streptogramin$_B$ = Pristimamycin I) und A-Streptogramine (Streptogramin$_A$ = Pristinamycin II). Quinopristin ist ein halbsynthetisches Streptogramin$_B$-Derivat und Dalfopristin ein halbsynthetisches Streptogramin$_A$-Derivat. Eine fixe Kombination aus Quinapristin und Dalfopristin ist das erste parenteral applizierbare Antibiotikum dieser Wirkstoffklasse. Der **Wirkungsmechanismus** besteht in der Hemmung der Proteinbiosynthese durch eine irreversible Bindung an das Peptidyltransferase-Zentrum in der 50S-Untereinheit des bakteriellen Ribosoms. Es wirkt gegen die meisten empfindlichen Bakterienstämme bakterizid. Bestimmte Stämme von Staphylokokken sind gegen den Quinopristin-Anteil resistent (MLS$_B$-Resistenz-Phänotyp, s.a. Makrolide), bleiben aber wegen der verbleibenden Aktivität von Dalfopristin (Streptogramin$_A$) empfindlich gegenüber der Kombination (RP 59500). Zum **Spektrum** zählen Staphylokokken, inklusive Methicillin-resistente Stämme, Streptokokken, inklusive Penicillin-resistenter Pneumokokken, und *E. faecium*, einschließlich Glykopeptid-resistenter Stämme, nicht aber *E. faecalis*.
Ein klinisch-pharmakologisches Problem besteht in der hohen Venenunverträglichkeit der parenteralen Formulation.

Glykopeptide

Die Glykopeptide **Vancomycin** und **Teicoplanin** sind hochmolekulare hydrophobe Substanzen (Molekulargewicht von Vancomycin 1449, von Teicoplanin 1900).

Wirkungsmechanismus

Glykopeptide hemmen die Synthese des Peptidoglykans. Sie binden an das terminale D-Alanyl-D-Alanin des Muramyl-pentapeptids. Dadurch kann die Transpeptidase die wachsenden Glykanketten nicht mehr quervernetzen, die Zelle ist nicht mehr vermehrungsfähig.

Resistenzmechanismus

Glykopeptid-resistente Zellen (z.B. von *Enterococcus faecium*) können Glykopeptide nicht mehr binden, da deren Bindungsstelle verändert ist (Substitution des zweiten D-Ala des terminalen Dipeptids durch D-Lac oder D-Ser). Dies hat jedoch zugleich zur Folge, daß die normale Transpeptidase nicht mehr quervernetzen kann. Das käme einer letalen Mutation gleich. Die für den Erhalt der Vermehrungs- (Überlebens-) Fähigkeit unverzichtbare Transpeptidierung wird jedoch in Glykopeptid-resistenten Zellen sichergestellt durch Ligasen (alternative Transpeptidasen), welche auch an D-Ala-D-Lac bzw. D-Ala-D-Ser binden und damit Glykanstränge quervernetzen können. Die wichtigste darunter ist VanA, ein 38–40 kD Protein (genetisch kodiert von *van* a). Die Glykopeptide werden an die veränderten terminalen Dipeptide nicht mehr gebunden und bleiben somit ohne Wirkung auf die alternative Ligase. Die Glykopeptid-resistenten Zellen können sich also in Gegenwart von Glykopeptiden vermehren. Die *van* a-resistenten Enterokokken sind resistent gegenüber Vancomycin und Teicoplanin, Enterokokken mit dem Resistenzgen *van* b und *van* c (= natürliche Resistenz von *E. gallinarum* und *E. casseliflavus*) nur gegenüber Vancomycin, nicht Teicoplanin. Der Mechanismus bei resistenen Staphylokokkenstämmen ist noch nicht exakt geklärt, beruht aber nicht auf *van* a – *van* c-ähnlichen Genen.

Wirkspektrum

Vancomycin verfügt über gute bakterizide Aktivität gegen Staphylokokken, Streptokokken (gegenüber Enterokokken nur bakteriostatisch), Corynebakterien, Listerien sowie gram-positive Anaerobier (z.B. *C. difficile*). Resistenz wurde bisher nur selten, und zwar bei *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* und Enterokokken beobachtet. Seit kurzem sind auch – bisher selten – Glykopeptidresistente *S. aureus*-Stämme beschrieben worden, jedoch nur im MRSA-Kollektiv. Die perspektivische biologische und klinische Relevanz kann noch nicht abgeklärt werden. Es besteht keine Parallelresistenz mit anderen Antibiotika-Gruppen. Vergrünende Streptokokken können bis zu einem Drittel tolerant gegenüber Vancomycin sein (MBK ≥ 32mal MHK).

Gram-negative sind primär resistent, da deren äußere Membran die Glykopeptide vom Ort ih-

rer Wirkung, der Peptidoglykansynthese im Periplasma, fernhält.
Hauptindikationen für Vancomycin sind schwere gram-positive Infektionen bei β-Laktam-Allergie, schwere Staphylokokkeninfektionen mit Methicillin-(= β-Laktam-)resistenten Stämmen, Infektionen mit *Corynebacterium JK*, sowie schwere Fälle der Antibiotika-assoziierten Kolitis (orale Applikation). Aufgrund von Nebenwirkungen wie Gehörschädigung und Nephrotoxizität sollten die Serumspitzen- und Talspiegelkonzentrationen von 30 μg/ml bzw. 5–10 μg/ml nicht überschreiten. Wegen der kompletten renalen Elimination ist deshalb die Kontrolle der Vancomycin-Konzentration im Serum des Patienten unter Therapie bereits bei leichten Einschränkungen der Nierenfunktion erforderlich.
Teicoplanin besitzt vergleichbare Aktivität wie Vancomycin gegen *S. aureus*, ist stärker aktiv gegen Enterokokken, aber schwächer gegen Koagulase-negative Staphylokokken (*van* a). Teicoplanin-Resistenz nimmt bei Enterokokken zu. Teicoplanin penetriert ungewöhnlich gut in Phagozyten. Pharmakokinetisch bemerkenswert ist die langsame Elimination von Teicoplanin (Serumhalbwertszeit nach i.v. Applikation 30–50 Stunden, nach i.m. Gabe etwa 100 Stunden, bei Vancomycin i.v. etwa 6 Stunden).

Fusidinsäure

Fusidinsäure wurde aus dem Pilz *Fusidium coccineum* isoliert. Strukturelle Ähnlichkeit mit Steroiden, jedoch ohne Hormonwirkung.
Fusidinsäure ist aktiv gegen Kokken, einschließlich multiresistenter Staphylokokken, inaktiv gegen gram-negative Stäbchen. Resistenzentwicklung durch chromosomale Mutation. Haupt-

pe, die in einen aliphatischen Ring eingeschlossen ist. Rifampicin wird semisynthetisch produziert als Derivat des Rifamycin SV mit geringer Wasser-, aber hoher Lipidlöslichkeit.
Rifamycine hemmen die DNA-abhängige RNA-Polymerase an deren β-Untereinheit durch Blockade des Initiationsschrittes. Sie wirken bakterizid, auch bei intrazellulärer Lagerung der Erreger (in Makrophagen) z.B. bei Mykobakterien. Das Wirkspektrum umfaßt Stämme grampositiver und gramnegativer Spezies.
Monotherapie mit Rifampicin ist wegen des Risikos der Resistenzselektion unter Therapie kontraindiziert. Die Mutationsrate zu Rifampinresistenter Polymerase mit MHK-Werten über 512 μg/ml liegt zwischen 10^{-6} und 10^{-10}. Die höhere Frequenz gilt für Kokken nach Punktmutation mit Austausch einer Aminosäure des Enzyms. Weniger häufig ist die Resistenzentwicklung dagegen bei *Mycobacterium tuberculosis*. Hauptindikationen für Rifampicin-Therapie sind Infektionen mit sensitiven Mykobakterien in Kombination mit anderen Substanzen, die Kombinationstherapie der Staphylokokken-Endocarditis und die Prophylaxe von Kontaktinfektionen bei endemischer Meningitis durch Meningokokken oder *H. influenzae* Typ B. Unter Rifampicin-Therapie muß berücksichtigt werden, daß Rifampicin seine eigene Metabolisierung bzw. die anderer Medikamente (Theophyllin, Corticosteroide, Cyclosporin) induzieren kann.

Polypeptidantibiotika

Von Bacillusarten produzierte bakterizide Antibiotika mit zyklischer Peptidstruktur. **Polymyxi-**

ne sind Bestandteile der selektiven Dekontamination des Oropharynx oder der Darmmukosa (nicht resorbierbar). Polymyxin-Inhalation kann die Lungenkolonisation durch *P. aeruginosa* bei Mukoviszidosepatienten hinausschieben.

Nitroimidazole

Metronidazol, 1-(2-hydroxyethyl)-2-methyl-5-nitroimidazol, ist der wichtigste Vertreter aus der Gruppe der Nitroimidazole (Abb. 3.46). Vollsynthetische Herstellung.
Metronidazol wird erst wirksam nach Reduktion der Nitrogruppe. Es wirkt durch Hemmung der Nukleinsäuresynthese bakterizid gegen viele gramnegative und grampositive Anaerobier einschließlich *C. difficile* und antiparasitär (vgl. Parasitologie, Kap. 10).

Neuentwicklungen und Perspektiven in der antimikrobiellen Chemotherapie

Die derzeit in der anti-infektiven Chemotherapie einsetzbaren Wirkstoffe sind ihrer Herkunft nach überwiegend Produkte von Mikroorganismen. Solche wurden bisher mit immer weiter verbesserten Suchverfahren als sekundäre Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen natürlicher Standorte (z.B. im Boden, Abwasser) isoliert. Ihre Strukturen sowie ihre spezifischen Angriffspunkte in der Erregerzelle sind zumeist bekannt, wurden jedoch für die meisten Substanzen erst lange nach der Entdeckung ihrer Wirkung und ihre klinische Anwendung aufgeklärt. Es stellt sich die Frage, ob über diese bekannten Targets hinaus bisher noch unentdeckte oder nicht genutzte Angriffspunkte der Bakterienzelle mit vitaler Funktion ausschließlich für mikrobielle Erreger sowie dem Ausschluß der Möglichkeit zur Entwicklung von Resistenzmechanismen vorhanden sind. Es wird davon ausgegangen, daß von den insgesamt auf 200 geschätzten Targets bereits ca. 150 bekannt sind und die restlichen 50 ein relevantes Restpotential für innovative Antibiotika darstellen. Auf dieser Basis werden bakterielle Genome (die komplette Sequenz liegt bereits für eine Reihe von Spezies vor) nach neuen Angriffspunkten für Antibiotika durchsucht. Damit, sowie durch Computer-gesteuerte chemische Synthese sollten die Chancen für das Auffinden von neuen Substanzen, vor allem auch mit Aktivität gegen multiresistente Erreger, verbessert werden können.
Im einzelnen zielt die Entwicklung verbesserter Antibiotika entweder auf die Modifikation bekannter und das Auffinden neuer Substanzen für bereits bisher fokussierte Targets oder auf Funktionen, die bisher nicht als Angriffspunkte für Antibiotika genutzt wurden wie Einzelschritte im Ablauf der Synthese von Zellwand, von Nukleinsäuren und von Proteinen. Vielversprechend erscheinen hier z.B. Inhibitoren der Amino-acyl-tRNA-Synthetasen. Dabei könnte die Entstehung von Inhibitor-resistenten Enzymen durch Kombination von Inhibitoren gegen mehrere Synthetasen so gut wie ausgeschlossen werden. Verstärkt wird ferner die Zytoplasmamembran als Zielstruktur für neue Antibiotika fokussiert. Membran-aktive Substanzen bestehen meist aus kleinen Peptiden, die sich in die Zytoplasmamembran integrieren und diese durch Ausbildung von Porinkanälen letal permeabilisieren (z.B. der Defensine mukosaler Zellen). Andere Ansätze zielen auf die Hemmung der Transkription von Genen für Produkte, welche das Überleben von Bakterien in der stationären Wachstumsphase sicherstellen. Neuere Entwicklungen konzentrieren sich auf die Hemmung der Synthese oder der Funktion von Virulenz- (z.B. von Adhäsion) oder Pathogenitäts-Faktoren sowie auf die Inhibition von Signaltransduktions- und Proteinsekretions-Mechanismen.

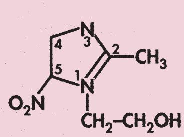


Abb. 3.46 Metronidazol.

Eine positive Perspektive der anti-infektiven Therapie erscheint möglich mit Hilfe innovativer antimikrobieller Substanzen und Prinzipien, strenger Indikationsstellung für die Verwendung vorhandener Antibiotika in Therapie und Prophylaxe, wirksamer Kontrolle ihres Einsatzes in der Tierernährung (z.B. als Wachstumsförderer) sowie Intensivierung geeigneter Maßnahmen zur Verhinderung des Transfers multiresistenter Erreger zwischen Patienten.

3.5.7 Klinische Grundprinzipien der antibakteriellen Chemotherapie

Indikationsstellung

Die Gabe von Antibiotika ist nur dann indiziert, wenn eine behandlungsbedürftige, durch Bakterien hervorgerufene Infektionskrankheit vorliegt.

Die Indikation wird zunächst klinisch gestellt. Anamnese, Befunde der klinischen Untersuchung sowie klinisch-chemische und radiologische Zusatzbefunde ermöglichen in aller Regel eine Verdachtsdiagnose. In akuten Fällen muß nach der Indikationsstellung und der Entnahme von Untersuchungsmaterial die Therapie unverzüglich begonnen werden. Da Erregerdiagnose und Antibiogramm noch nicht vorliegen, muß die **Chemotherapie** zunächst **kalkuliert** erfolgen. Dies heißt, es wird eine empirische Therapie eingeleitet, welche die aufgrund des klinischen Bildes zu erwartenden Erreger eingrenzt und deren anhand lokaler Erfahrungen zu erwartende Antibiotikaempfindlichkeit berücksichtigt. Das mögliche Erregerspektrum muß so breit wie nötig abgedeckt werden, auch unter Einbeziehung des Grades der Bedrohung des Patienten durch die Infektion.
Erst Erregerdiagnose und Antibiotikaempfindlichkeitsprüfung ermöglichen die Einleitung einer **gezielten Chemotherapie** und damit eine mögliche Deeskalation. Daher muß vor dem Beginn der kalkulierten Chemotherapie eine gezielte und sorgfältige **Entnahme** von geeignetem **Untersuchungsmaterial** zur bakteriologischen Diagnostik unter Berücksichtigung der klinisch wahrscheinlichen Infektionslokalisation erfolgen (s. Kap. 2.1). Die Qualität des Materials bestimmt die Wertigkeit des bakteriologischen Befundes. Erregerbefund und Antibiogramm müssen auf klinische Plausibilität überprüft werden. Eine Antibiotikatherapie „ex iuvantibus" ohne klinische Verdachtsdiagnose und bakteriologische Absicherung darf nur in seltenen Ausnahmefällen durchgeführt werden, z.B. beim Syndrom des unklaren Fiebers nach einer umfangreichen Diagnostik.
Bei der Indikationsstellung ist weiterhin zu berücksichtigen, daß bei einigen Infektionskrankheiten andere Therapiemaßnahmen vorrangig oder flankierend durchgeführt werden müssen. Dies sind in erster Linie chirurgische Interventionen wie die Eröffnung von Abszessen und Phlegmonen, Ausräumung von infizierten Hämatomen oder die Entfernung von Fremdkörpern. Häufig erscheinen Infektionen als Sekundärphänomene anderer Grundkrankheiten, wie z.B. Infektionen von Hohlraumsystemen bei obstruierenden Prozessen durch Konkremente oder Tumoren. Hier ist die akute Gabe von Antibiotika zwar indiziert und notwendig, sie allein kann jedoch ohne chirurgische Sanierung der Grundsituation nicht zur Ausheilung führen, Rezidive wären dann vorprogrammiert. Ähnliches gilt für ursächlich oder flankierend notwendige andere konservative Therapiemaßnahmen wie z.B. zur Behebung einer Mikrozirkulationsstörung oder zur Sekretolyse oder Antitoxingabe z.B. bei Diphtherie. Eine zu früh begonnene oder nicht indizierte Antibiotikagabe kann ein Krankheitsbild verschleiern und damit die Indikation zu anderen entscheidenden Therapiemaßnahmen verzögern (z.B. Anastomoseninsuffizienz und Peritonitis).

Wahl des Chemotherapieregimes

Bei der **kalkulierten Chemotherapie** müssen der in Frage kommende Erreger bzw. das Erregerspektrum eingegrenzt werden. Bei einigen Infektionskrankheiten gibt es eine pathognomonische Erregerkorrelation wie z.B. bei Typhus abdominalis oder Scharlach. Entscheidend ist weiter, ob die Infektion außerhalb des Krankenhauses erworben wurde oder ob es sich um eine nosokomiale Infektion handelt. Auch aus der Infektlokalisation lassen sich zum Teil definitive Rückschlüsse auf die Erregernatur ziehen. Bei geschwächter körpereigener Abwehr, z.B. bei der Sepsis bei Frühgeborenen oder Patienten in Aplasie sind nur bakterizid-wirksame Therapeutika indiziert. Gleichzeitig ist daran zu denken, daß das Spektrum der zu erwartenden Erreger bei abwehrgeschwächten Patienten völlig anders sein kann, z.B. atypische Mykobakterien, Legionellen, Nokardien, *Cryptococcus*, *Pneumocystis carinii* bei Pneumonie.
Alle Erkrankungen, welche die Pharmakokinetik beeinflussen, können dazu führen, daß Antibiotika nicht an den Infektionsort gelangen oder nicht normal metabolisiert bzw. eliminiert werden können. Schwere Erkrankungen bestimmter Organe können die Verwendung solcher Antibiotika von vornherein ausschließen, zu deren potentiellen Nebenwirkungsspektren diese Organe gehören. Auch physiologische Zustände können bestimmte Antibiotika von vornherein

3

höhere Risiko der Selektion resistenter Erreger und ein größeres Allergisierungsrisiko. Daher beschränkt sich die Anwendungsmöglichkeit auf das äußere Auge, das äußere Ohr, Mundhöhle, Vagina etc. Spülungen von Wunden und Körperhöhlen sollten – wenn überhaupt – nur mit Zusatz von Desinfizientien durchgeführt werden.

Mit den heute zur Verfügung stehenden Antibiotika kann in vielen Fällen eine Monotherapie durchgeführt werden. Eine **Kombinationstherapie** (z.B. aus β-Laktamantibiotikum + Aminoglykosid) kann in der Phase der kalkulierten Chemotherapie notwendig sein, um das bei dem klinischen Bild mögliche Erregerspektrum in seiner ganzen Breite abzudecken. Ähnliches gilt auch für die gezielte Chemotherapie, wenn es sich um eine Mischinfektion handelt. Bei einer bakteriologisch abgesicherten Monoinfektion kommt eine Kombinationstherapie klinisch nur aus zwei Gründen in Frage: Es kann ein additiver oder synergistischer Effekt (s. Kap. 3.5.3) erwartet werden. Ein synergistischer Effekt ist bisher nur für wenige Kombinationen, bezogen auf einige Erregergruppen, bewiesen oder wahrscheinlich, so für die Kombinationen aus β-Laktam-Antibiotika oder Glykopeptiden mit Aminoglykosiden gegen grampositive Kokken z.B. bei Endokarditis. Bei jeder Kombinationstherapie ist zu beachten, daß sich die Kombinationen nicht schon von vornherein aus bakteriologischen (Antagonismus) und/oder pharmakologischen Gründen (s. Kap. 3.5.4) ausschließen, und daß sich auch das potentielle Nebenwirkungsrisiko für den Patienten erhöhen kann. Fixe Kombinationen von Antibiotika, mit Ausnahme der Kombination von β-Laktam-Antibiotika mit β-Laktamase-Inhibitoren und der Kombination

prüft werden, ob der ursächliche Erreger eliminiert wurde z.B. bei der Endokarditis, der Meningitis oder bei einer Salmonellenenteritis. Dies kann für den Patienten selbst von Bedeutung sein, um z.B. ein Rezidiv bei der Endokarditis von vornherein zu verhindern oder der Entwicklung eines Postinfektionssyndroms vorzubeugen. Es kann aber auch Seuchen- bzw. Krankenhaus-hygienische Gründe haben, um einen Ausscheider (Salmonellen) oder einen Keimträger (*S. aureus*) zu erkennen.

Wenn nach einer klinisch tolerierbaren Zeit keine Besserung erfolgt, muß zunächst die Indikation überprüft werden: Besteht weiter der klinische Verdacht, daß es sich um eine Infektionskrankheit handelt? Liegt eine Situation vor, die die Ineffektivität einer Antibiotikatherapie erklärt wie Abszedierung, Anastomoseninsuffizienz usw.? Ist die Dosierung adäquat? Dann muß überlegt werden, ob die Antibiotikawahl richtig war. Bei ausbleibender Effektivität bringt die Therapie für den Patienten nicht nur keine Vorteile, sondern Nachteile durch die erwähnten unerwünschten Nebenwirkungen. In diesem Zusammenhang muß auch auf die Möglichkeit eines antibiotikainduzierten Fiebers („Drug"-Fieber) hingewiesen werden.

Der zweite wichtige Gesichtspunkt in der Chemotherapiekontrolle ist das frühzeitige Erkennen von **Nebenwirkungen.** Alle klinisch, klinisch-chemisch oder durch anderweitige Untersuchungen erkennbare Veränderungen unter einer Chemotherapie müssen daraufhin überprüft werden, ob sie in direktem oder indirektem Zusammenhang mit der durchgeführten Chemotherapie stehen könnten. Je nach Art der ver-

3

gelegt wird. Diese Klassifizierung sollte normalerweise für jeden betroffenen Patienten in einem „Herzpaß“ exakt definiert sein. Art und Dauer der prophylaktischen Antibiotikagabe sind bezogen auf die Risikogruppe festgelegt. Bei Patienten der Niedrigrisikogruppe ist eine einmalige orale Gabe ausreichend, während bei Patienten der Hochrisikogruppe dreitägige Applikationen notwendig werden können.

Ein weiteres Indikationsgebiet für eine prophy-

Eingriffen, wo auch Anaerobier der Pharynx- oder Darmflora ätiologisch in Frage kommen, zusätzlich Metronidazol oder von vornherein ein β-Laktam mit Anaerobier-Wirksamkeit. Substanzen mit sehr breitem Spektrum, die in der Therapie als Reservesubstanzen Verwendung finden, sollten nicht zur perioperativen Antibiotikagabe benutzt werden.

Eine **prophylaktische Antibiotikagabe** im weiteren Sinne – man könnte hier auch von einer „Frühtherapie“ sprechen – ist die Gabe von Antibiotika bei **abwehrgeschwächten Patienten** bei

3.5.10 Schlußbemerkungen

ROOT, R. R. (Ed.): Clinical Infectious Disease. Oxford

Wirtsorganismus vorliegt, sind also fakultativ pathogen. Mikroorganismen, die nur bei Abwehrschwäche Infektionen hervorrufen, werden auch opportunistische Erreger genannt. Infektionen, die von der normalen Keimbesiedlung ausgehen, werden als endogen bezeichnet.

3.6.1 Funktionen der physiologischen Flora

Die Rolle der normalen Flora beim gesunden Menschen ist seit den Anfängen der Mikrobiologie Gegenstand von Spekulationen und wissenschaftlichen Auseinandersetzungen. Zwei gegensätzliche Meinungen, vorgebracht von hervorragenden Vertretern des Faches, beherrschten die Diskussion. PASTEUR vertrat die Ansicht, daß die normale Flora lebensnotwendig sei, während METSCHNIKOFF diese Mikroorganismen als Antagonisten bezeichnete, die mit dem Wirtsorganismus im Wettbewerb um essentielle Stoffe stünden.

Tab. 3.24 Wirkung der intestinalen Flora bei der Erhaltung der Kolonisationsresistenz und in der Infektionsabwehr

Schutz gegen standortfremde Besiedlung
- Konkurrenz um Nährstoffe und Wachstumsfaktoren
- Besetzung von Rezeptoren, Behinderung der Adhärenz
- Bildung von Bakteriozinen und toxischen Metaboliten
- Senkung des pH-Wertes und des Sauerstoffpartialdruckes (Redoxpotential)
- Anregung der Peristaltik

Hemmung der Translokation von Mikroorganismen aus dem Darm

Abbau von Toxinen

Immunstimulation
- kontinuierliche Antigenpräsentation an Makro-

durch die Beschleunigung der Darmpassage auch

Gallensalze werden normalerweise im Dick-

halten. Zur Bewertung der Befunde müssen klinische Daten bekannt sein.

Bereits bei der Gewinnung der Probe muß danach getrachtet werden, daß eine Verunreinigung mit

ganismen aus Materialien, die stark mit normaler Flora durchsetzt sind.

3.6.3 Zusammensetzung der physiologischen Flora

scheinlich 400–500 Spezies und Subspezies vertreten, von denen allerdings nur wenige Gruppen als Erreger endogener Infektionen beobachtet werden und damit überhaupt in das Bewußtsein des diagnostisch tätigen Mikrobiologen treten. Trotz hoher Artenvielfalt und einer beträchtlichen individuellen Variationsbreite bleibt beim einzelnen Menschen die physiologische Flora relativ stabil und kehrt nach einer Störung normalerweise rasch wieder zur Ausgangslage zurück. So konnte bei Versuchspersonen über Monate eine ähnliche Zusammensetzung der Flora auch nach kurzfristiger experimenteller Störung durch Antibiotika festgestellt werden.

Die verschiedenen Körperbereiche haben eine für sie charakteristische Standortflora, die **residente Flora.** Mikroorganismen, die in einem bestimmten Bereich nicht heimisch sind, sondern durch exogene oder endogene Einflüsse zeitwei-

Der mikrobielle Beitrag zur Kolonisationsresistenz wurde bereits erwähnt. Besonders im Dickdarm hemmt allein die gewaltige Zahl anaerober Bakterien, welche die Epithelien wie eine Tapete überziehen, die Adhärenz transienter Organismen.

Besiedlung der Haut

Die Hautflora besteht in erster Linie aus Bakterien der Gattungen *Staphylococcus, Micrococcus, Corynebacterium, Propionibacterium, Brevibacterium* und *Acinetobacter*. Ebenso finden sich verschiedene anaerobe Kokken und Sproßpilze der Gattung *Pityrosporum (Malassezia)*. Darüber hinaus können als transiente Flora viele andere Keimgruppen nachgewiesen werden, die aber meist keine günstigen Bedingungen für die dauernde Ansiedlung auf dem komplexen Ökosystem der Haut vorfinden. Diese Anflug-

Wangenschleimhaut und des Gaumens, die Gingiva, die harten Oberflächen der Zähne und die Zahnplaques. Die Mundhöhle ist außerdem Durchgangsstation für viele Mikroorganismen, die mit der Nahrung und durch direkten Kontakt eingebracht werden. Substanzen des spezifischen und des unspezifischen Abwehrsystems im Speichel (s.a. Kolonisationsresistenz) tragen trotzdem zur Stabilität des Ökosystems bei. Die Keimzahlen im Speichel betragen bis zu 10^9/ml. Die überwiegende Zahl der Mikroorganismen sind obligate Anaerobier, welche die aerob wachsenden Keime um 1–2 Zehnerpotenzen übertreffen. Leitkeime der aerob wachsenden Flora sind vergrünende Streptokokken und Neisserien. Weiterhin finden sich *Haemophilus*-Arten, Moraxellen, Staphylokokken, Corynebakterien, Laktobazillen, Enterokokken sowie gelegentlich Enterobakteriazeen und Pseudomonaden, ebenso Sproßpilze, Amöben und Trichomonaden. Die anaerobe Bakterienflora ist äußerst artenreich, unter den gramnegativen sind Arten der Gattungen *Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, Campylobacter, Fusobacterium, Leptotrichia, Selenomonas, Wolinella* und *Veillonella* zu finden, unter den gram-positiven Arten *Actinomyces, Arachnia, Bifidobacterium, Eubacterium, Lactobacillus, Propionibacterium*

sidenten Flora des Magens kann nicht gesprochen werden, wenn man von *Helicobacter pylori* absieht, dessen Anwesenheit offensichtlich mit Krankheit in Verbindung zu setzen ist. Keimarm ist auch das Duodenum mit ähnlichen Werten wie der Magen, die Keimzahlen nehmen nach aboral zu, erreichen im Jejunum bis zu 10^5, im Ileum bis zu 10^9 und steigen im Kolon auf ihre maximalen Werte bis zu 10^{12} pro g Darminhalt an. Letztere sind auch die Keimzahlen, die in den Fäzes gefunden werden. Wegen der Artenvielfalt der Darmflora ist eine exakte Beschreibung kaum möglich. Als häufige Vertreter der aeroben und fakultativ anaeroben Bakterien sind Enterobakteriazeen – hier überwiegend *Escherichia coli* – Enterokokken, Streptokokken, Staphylokokken und Laktobazillen zu finden, weiterhin Pseudomonaden, Vibrionen und Sproßpilze, hauptsächlich Candidaarten. Unter den obligaten Anaerobiern finden sich *Bacteroides*-Arten, Fusobakterien, Bifidobakterien, *Eubacterium*- und *Clostridium*-Arten, Peptokokken, Peptostreptokokken, *Veillonella* und viele andere. Das Verhältnis zwischen obligat anaeroben und aerob wachsenden Bakterien ändert sich vom Dünndarm, wo beide Gruppen in etwa gleichen Keimzahlen vertreten sind, bis zum Dickdarm, wo die obligaten Anaerobier die an-

ringeren Mengen finden sich auch Strepto- und Enterokokken, Enterobakteriazeen, Mykoplasmen und Ureaplasmen, anaerobe Kokken, Clostridien, Bifidobakterien und Fusobakterien sowie auch Sproßpilze. Die Milchsäureproduktion der Laktobazillen senkt den pH-Wert und hindert damit das Überwuchern anderer Keime. Die Scheidenflora ist starken physiologischen Schwankungen unterworfen, sie ändert sich im Laufe des Menstruationszyklus, während der Schwangerschaft und in der Menopause. In der Schwangerschaft kommt es häufig zu einer Besiedlung mit Sproßpilzen und Streptokokken, vor allem mit β-hämolysierenden Streptokokken der Gruppe B *(Streptococcus agalactiae)*. In der Menopause erfolgt vermehrt eine Besiedlung, die von der Darmflora ausgeht. Im Zervikalkanal nimmt die Besiedlung gegenüber der Vagina ab und sinkt im Cavum uteri auf minimale Werte.

3.6.4 Änderungen während des Lebens und durch äußere Einflüsse

Bis zur Geburt ist der Fötus im Mutterleib keimfrei. Während des Geburtsvorganges kommt es zum ersten Kontakt mit Mikroorganismen aus der mütterlichen Flora. Innerhalb weniger Tage werden Haut und Schleimhäute mikrobiell besiedelt.

Die Keimaufnahme in den Darm erfolgt über die Mundhöhle. Erste Besiedlungskeime des Säuglingsdarms sind *Escherichia coli* und Streptokokken sowie Laktobazillen und Staphylokokken. Erst einige Tage später treten beim brustgestillten Säugling die Bifidobakterien in den Vordergrund. Durch deren Milchsäureproduktion sinkt die Zahl der anderen Bakterien ab, so daß während der Stillperiode eine typische Bifidobakterienflora vorhanden ist. Nach dem Abstillen kommt es rasch zur Besiedlung mit denjenigen Keimen, die als typische Bestandteile der Darmflora beschrieben wurden.

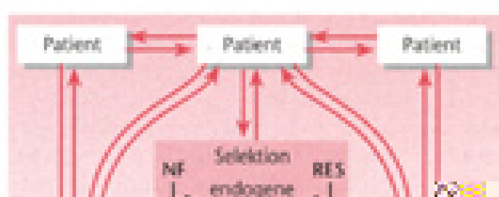
Im höheren Lebensalter steigt in der Mundhöhle der Anteil von Enterobakteriazeen und En-

Antibiotika und Antiseptika üben erwartungsgemäß einen starken Einfluß auf die normale Flora aus.

Auf der Haut senken vor allem Tetrazykline und Clindamycin die Keimzahl, wogegen Penicilline nur geringe Wirkung haben. Den deutlichsten Einfluß auf die Keimzahlen haben allerdings Desinfektionsmittel wie Alkohol und lokale Antiseptika wie Hexachlorophen und Chlorhexidin. Letztere führen zu einer länger anhaltenden Suppression der Hautflora. Ob allerdings eine präoperative Waschung mit Chlorhexidin die Häufigkeit von Wundinfektionen senken kann, bleibt umstritten.

Wenn durch Antibiotika die Kolonisationsresistenz im Darm, die vor allem durch Anaerobier bedingt ist, gestört wird, so kommt es leicht zur Neubesiedlung mit resistenten Mikroorganismen oder zum Überwuchern einzelner Keimarten, wie z.B. *Clostridium difficile*, dem Erreger der Antibiotika-assoziierten Colitis. Die Bedeutung der Kolonisationsresistenz und der Einfluß der Antibiotika kann an einem Experiment demonstriert werden. Verabreicht man gesunden Probanden eine Suspension von *Pseudomonas aerogenosa*, so kommt es nur zu einer kurzfristigen Ausscheidung dieses Keimes mit dem Stuhl. Wird jedoch gleichzeitig mit der externen Keimbelastung Ampicillin gegeben, wird der Darm dauerhaft besiedelt. Die Wiederherstellung normaler Verhältnisse erfolgt erst nach Absetzen des Antibiotikums. Weitere Medikamente mit Wirkung auf die Keimbesiedlung sind Zytostatika mit Antibiotika-ähnlichen Eigenschaften, Kontrazeptiva und Steroide, die eine Besiedlung mit Sproßpilzen fördern, sowie Antazida und Histamin H2-Rezeptorenblocker, bei deren Anwendung die Besiedlung des Magens mit Darmbakterien und Sproßpilzen zunimmt. Fremdkörper wie Harnkatether oder Trachealtuben können Schienen für eine mikrobielle Besiedlung üblicherweise keimfreier Körperbereiche bilden. Krankheiten wie Diabetes mellitus disponieren zu einer Besiedlung mit Sproßpilzen.

3.6.5 Die physiologische Flora als Quelle endogener und nosokomialer Infektionen


Patient
Patient
Patient
Selektion
NF
RES
endogene

VRE), die Anlaß zur Sorge geben. MARSA besiedeln vor allem den Nasen-Rachen-Raum und die Perianalregion und können von da aus streuen. Das Auftreten von MARSA erfordert rigorose Maßnahmen der Händehygiene, der Isolierung und der Sanierung der Keimträger durch topische oder systemische Antibiotika. GRE bedeuten vor allem für immunkompromittierte Patienten, etwa nach Leber- oder Knochenmarktransplantation, eine Bedrohung, sind

Literatur

DRASAR, B. S. and P. A. BARROW: Intestinal Microbiology. Amer. Soc. Microbiol., Washington, DC, 1985.

FINEGOLD, S. M. and W. L. GEORGE (eds.): Anaerobic Infections in Man. Academic Press, London, New York 1989.

HILL, M. J. and P. D. MARSH (eds.): Human Microbial Ecology. CPR Press, Boca Baton, FL, 1990.

SKINNER, F. A. and J. G. CARR (eds.): The Normal Microbial Flora of Man. Academic Press, London,

4 Spezielle Bakteriologie

4.1 Die Familie der Micrococcaceae

Georg Peters, Gerhard Pulverer

Die Familie der *Micrococcaceae* umfaßt **gram-positive**, meist katalasepositive Kokken, die überwiegend **fakultativ anaerob** wachsen und bis auf wenige Ausnahmen unbeweglich sind. Man unterscheidet vier Gattungen (Tab. 4.1):

- *Staphylococcus*
- *Micrococcus*
- *Planococcus*
- *Stomatococcus.*

Aufgrund moderner, phylogenetischer Untersuchungen können die Gattungen *Staphylococcus* und *Planococcus* auf der einen Seite sowie *Micrococcus* und *Stomatococcus* auf der anderen Seite zwei völlig verschiedenen phylogenetischen Linien zugeordnet werden. Es stellt sich daher die Frage, ob es richtig ist, diese so differenten Bakteriengruppen in einer gemeinsamen Familie zu belassen. So wurde schon vorgeschlagen, die in sich inhomogene Gattung *Micrococcus* völlig herauszulösen und gleichzeitig in sechs neue Gattungen zu retaxonomieren: *Micrococcus, Kocuria, Nesterenkonia, Kytococcus, Dermacoccus* und *Arthrobacter*. Sie werden hier jedoch aus differentialdiagnostisch-mikrobiologischen Gründen weiter behandelt.

Von Interesse für die Humanmedizin sind die Gattungen *Staphylococcus*, „*Micrococcus*" und *Stomatococcus*.

Geschichte

Bereits aus den Jahren 1871/72 liegen Berichte über den Nachweis von rundlichen kokkoiden Elementen in Abszessen, im Eiter sowie im Blut von pyämischen Patienten vor. Bei Staphylokokken gelang es R. Koch erstmals, die Postulate zur Anerkennung der Erregernatur einer Bakterienart zu erfüllen. L. Pasteur veröffentlichte 1880 seine entsprechenden Untersuchungsergebnisse zur Ätiologie von Furunkeln, Osteomyelitis und Puerperalfieber. Dem schottischen Chirurgen A. Ogston gebührt aber das Verdienst der ersten wirklich grundlegenden Arbeiten über Staphylokokken, in typischen Eiterungsprozessen konnte er stets in reichlicher Menge traubenförmig angeordnete Kokken nachweisen. Ogston gab diesen Mikroorganismen den Namen *Staphylococcus*. Im Jahre1881 klassifizierte F.J. Rosenbach die Staphylokokken aufgrund der Pigmentierung ihrer Kolonien auf Agarmedien in die gelbpigmentierte Art „Staphylococcus pyogenes aureus" und in die weißpigmentierte Art „Staphylococcus pyogenes albus". J. Passet fügte 1885 die in zitronengelb gefärbten Kolonien wachsende Art „Staphylococcus citreus" hinzu. J. v. Darányi erkannte 1926 klare Zusammenhänge zwischen der Plasmakoagulase-Aktivität von Staphylokokken und ihrer pathogenen Bedeutung.

4.1.1 Genus Staphylococcus

Das Genus *Staphylococcus* weist eine große Spezies-Vielfalt auf, laufend wird im Schrifttum über neu gefundene Arten berichtet. Obwohl die von v. Darányi vorgeschlagene Einteilung der Staphylokokken in **plasmakoagulasepositive (*S. aureus*-Gruppe)** und **plasmakoagulasenegative** Arten molekulargenetisch nicht untermauert ist, hat man sie aus Gründen der klinischen Relevanz und Praktikabilität beibehalten.

Bedeutung als Krankheitserreger beim Menschen haben vor allem drei Staphylokokken-Spezies:

- Staphylococcus aureus
- Staphylococcus epidermidis
- Staphylococcus saprophyticus.

4.1.2 *S. aureus*-Gruppe

***S.** aureus*-Stämme sind an Mensch und Tier adaptiert, sie können aber auch im umgebenden Milieu einige Zeit überdauern. Bezüglich ihrer „spezifischen" Virulenz lassen sich tierische von menschlichen *S. aureus*-Stämmen unterscheiden, sie werden deshalb auch als „Standortvarietäten" bezeichnet. Weitere koagulasepositive Spezies, *S. intermedius*, *S. schleiferi* ssp. *coagulans, S. delphini* sowie die koagulasevariable Art *S. hyicus* kommen natürlicherweise nur bei Tieren vor, sie haben dementsprechend vorwiegend veterinärmedizinische Bedeutung.

Eigenschaften des Erregers

Staphylokokken sind gram-positive, meist in Haufen gelagerte Kokken, sie sind unbeweglich und bilden keine Sporen. Sie sind ohne größere Schwierigkeiten auf vielen künstlichen **Nährböden** anzüchtbar. Sie bilden runde, glänzende Kolonien (1–2 mm Durchmesser). Die Pigmentierung der Kolonien ist variabel, sie reicht von weiß bis goldgelb. Die Staphylokokken-Pigmente gehören zu den Karotinoiden, sie werden als Schutzmechanismus gegen Licht und UV-Strahlen gebildet. Zusammenhänge zwischen Pathogenität bzw. Virulenz eines Stammes und seiner Pigmentbildung bestehen nicht. Auf bluthalti-

Tab. 4.1 Kriterien zur Unterteilung der Familie *Micrococcaceae* in vier Gattungen[1]

Eigenschaften	Planococcus	Micrococcus	Stomatococcus	Staphylococcus
Basis-Kriterien:				
Basenzusammensetzung der DNA (Mol % G + C)	40–51	70–75	56–60	30–38
Zellwandzusammensetzung > 2 Mole Glycerin pro Mol Glutaminsäure im Peptidoglykan	–	–	–	+
Teichonsäure	–	–	–	+
Fruktose-1,6-diphosphat-Aldolase-Typ	NB	II	II	I*
Zytochrom C	NB	+	+	–*
Beweglichkeit	+	–**	–	–
diagnostische Kriterien:				
Wachstum in 5% NaCl	+	–	+	
Lysostaphinempfindlichkeit	–	–	+	
Bactracinempfindlichkeit		+	NB	–***

NB nicht bekannt; * Ausnahmen kommen vor; ** *M. agilis* +; *** Ausnahmen bei *S. aureus* häufig möglich, sichere Abgrenzung durch positive Koagulasereaktion
[1] phylogenetisch sehr heterogene Familie (s. Einleitung)

gen Nährmedien sind *S. aureus*-Kolonien häufig von einem **Hämolysehof** umgeben. In flüssigen Medien kommt es meist zur diffusen Trübung. Die Wachstumstemperatur hat ihr Optimum bei 30–37 °C, das Temperaturspektrum, in dem Wachstum möglich ist, reicht von etwa 10 °C bis zu 45 °C. Vermehrung ist auch noch bei hohen Kochsalzkonzentrationen (bis zu 10% und mehr) möglich (relativ weiter pH-Bereich). Diese hohe Kochsalztoleranz kann zur selektiven Anzüchtung von *S. aureus* aus Lebensmittel- und Stuhlproben verwendet werden. Staphylokokken sind relativ resistent gegen UV-Strahlen, Hitze, Austrocknung und auch gegen verschiedene Desinfektionsmittel.
Eine Reihe von Zelloberflächenstrukturen und extrazellulären Produkten von *S.aureus* sind als potentielle Virulenzfaktoren, z.T. auf molekularer Ebene, charakterisiert worden:

Protein A
Auf der Oberfläche von *S. aureus*-Stämmen kann bis auf ganz wenige Ausnahmen ein Protein mit einem Molekulargewicht von rund 42 kD nachgewiesen werden, das als Protein A bezeichnet wird. Protein A ist dank seiner *antiphagozytären* Eigenschaft ein wichtiger Virulenzfaktor. Dazu trägt auch die Fähigkeit bei, Immunglobuline über deren Fc-Stücke zu binden. Vom Menschen wird vor allem IgG der Subklassen 1, 2 und 4 gebunden. Der Opsonisierungseffekt der Antikörper wird somit umgekehrt, da Fc-Stücke der als Opsonine funktionierenden Immunglobuline nicht mehr für die Fc-Rezeptoren der Phagozyten zur Verfügung stehen.

Dieses Merkmal kann auch für die serologische Diagnostik genutzt werden: *S. aureus*-Zellen können über ihre Fc-Stücke mit spezifischen Antikörpern beschichtet und damit zum Antigennachweis (Koagglutination) verwendet werden.

Clumpingfaktor
Auch der Clumpingfaktor (Fibrinogenrezeptor) ist ein Bestandteil praktisch aller *S. aureus*-Zelloberflächen. Er führt vorwiegend durch Aktivierung von Fibrinmonomeren zu einer Verklumpung von Plasma und ist durch seine spezifische Bindungsfähigkeit an Fibrinogen ein wichtiges Adhäsin.

Fibronektin-Bindeproteine
Die meisten *S. aureus*-Stämme besitzen auf ihrer Oberfläche zusätzliche Bindungsproteine („Rezeptoren") für weitere Matrixproteine, die alle wichtige Adhäsionsfunktion haben. Gut charakterisiert sind die Fibronektin-bindenden Proteine FnbpA und FnbpB.

Kapsel
Wohl die meisten *S. aureus*-Stämme besitzen eine Polysaccharid-Kapsel. Bisher lassen sich 11

serologisch unterschiedliche Typen definieren. Sehr selten ist die Makroschleimkapsel (Serotyp 1), meist handelt es sich um eine Mikrokapsel (am häufigsten die Serotypen 5 und 8). Beide Kapselformen haben in unterschiedlicher Ausprägung *antiphagozytäre* Eigenschaften.

Extrazelluläre Produkte

S. aureus-Stämme sind in der Lage, verschiedenste extrazellulär abgegebene Stoffe zu produzieren, die auch toxisch wirken können. Sie sind Hilfsmittel für die Staphylokokkenzellen, sich im Gewebe festzusetzen, dort zu überleben, sich zu vermehren sowie in die Umgebung vorzudringen und sich gegen die Abwehrmechanismen des Wirtsorganismus zu schützen. Dadurch wird auch verständlich, daß im Verlauf einer Staphylokokkeninfektion Antikörper gegen verschiedene Staphylokokken-Produkte auftreten können. Man kann zwischen folgenden extrazellulär abgegebenen Stoffen unterscheiden:

Plasmakoagulase. Dieses extrazellulär von *S. aureus*-Stämmen abgegebene Enzym führt zu einer Verklumpung von Blutplasma, wobei die Mechanismen denen der physiologischen Blutgerinnung ähnlich, aber nicht identisch sind. Die Koagulase verbindet sich mit dem Prothrombin zum sogenannten Staphthrombin, welches dann die Aktivierung des Fibrinogens zu Fibrin auslöst. Das so gebildete Fibrinpolymer unterscheidet sich physiko-chemisch von dem, das im Verlauf der normalen Blutgerinnung gebildet wird. Die pathogenetische Bedeutung der Koagulase liegt in der Bildung eines Fibrin-Schutzwalles um die ins Gewebe eingedrungenen Staphylokokkenzellen. Dieser Fibrinschutzwall kann später, nach entsprechender Vermehrung, durch das von denselben Staphylokokken gebildete Fibrinolysin *(Staphylokinase)* wieder gelöst werden. Die Staphylokokken, die sich in der Zwischenzeit vermehrt haben, können sich dann in die Umgebung ausbreiten.

Leukozidin. Dieses Toxin schädigt selektiv Granulozyten und Makrophagen des Menschen in vitro und in vivo, es ist somit ebenfalls ein wichtiger Virulenzfaktor.

Hämolysine. Staphylokokken können verschiedene Hämolysine produzieren, die zur Auflösung von Erythrozyten führen. Bekannt sind die Hämolysine α, β, γ und δ. Pathogenetisch mit Abstand am wichtigsten ist das [illegible]-Hämolysin vor allem auf Thrombozyten, Endothelzellen und einige Epithelzellen. Das β-Hämolysin (eine Sphingomyelinase C) und das γ-Hämolysin wirken hämolysierend und zytotoxisch, während die Bedeutung des δ-Hämolysins noch unklar ist. Im Wirkungsspektrum der einzelnen Hämolysine gegen die roten Blutkörperchen verschiedener Säugetier-Spezies gibt es Unterschiede. Das β-Hämolysin wird besonders von Tierstämmen gebildet.

Hyaluronidase. Die meisten *S. aureus*-Stämme bilden Depolymeridasen, mit denen sie die interzellulären Kittsubstanzen auflösen. Dadurch wird ihre Gewebsinvasivität mitbedingt.

Exfoliativtoxine. Diese epidermolytischen Toxine führen beim Menschen und bei einigen wenigen Säugetieren zur intraepidermalen Spaltbildung zwischen dem Stratum spinosum und dem Stratum granulosum der Epidermis. Klinisch wird dadurch das *Staphylococcal Scalded Skin-Syndrome (SSSS)* ausgelöst. Nach chemischen (Molekulargewicht, Aminosäuresequenz etc.) und genetischen Kriterien (chromosomale bzw. plasmidäre Kodierung) lassen sich zwei Proteine, das Exfoliatin A und B unterscheiden, während ihre biologische Wirkung gleich ist. Interessanterweise werden diese Exfoliatine nicht von allen *S. aureus*-Stämmen gebildet, sondern meist nur von Stämmen der ansonsten seltenen Phag-Gruppe II (s. Lysotypie).

Enterotoxine. Bislang werden die Enterotoxine A, B, C1–3, D, E, G und H voneinander abgegrenzt. Nicht alle *S. aureus*-Stämme bilden Enterotoxine, die Nachweisfrequenz liegt bei 18–76 %. Wohl für den Menschen am gefährlichsten sind die Enterotoxine A und B. Meistens wird nur ein einziges Enterotoxin produziert, es können aber auch mehrere Enterotoxine gleichzeitig gebildet werden.

Die **Enterotoxine** sind sehr hitzeresistent, sie werden auch nach 30-minütigem Erhitzen auf 100 °C nicht völlig inaktiviert (*cave* Verzehr enterotoxinhaltiger Nahrungsmittel nach angeblich „sicherem" Aufkochen!). Über die genaue Wirkungsweise der einzelnen Enterotoxine ist noch wenig bekannt. Gesichert ist die (zentrale?) emetische Wirkung nach oraler Aufnahme. Akzeptiert ist heute auch, daß Enterotoxine ein Toxic-Shock-Syndrom (s.u.) auslösen können.

rig oder nicht typisierbar) gebildet. Dieses Toxin verursacht das „Toxic Shock Syndrome“ (TSS, s.u.). Es ist ein relativ hitzeresistentes Protein, das chromosomal kodiert wird. Die biologische Hauptwirkung besteht darin, daß die Endotoxin-Wirkung amplifiziert und die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen, vor allem von Interleukin-1 und Tumornekrosefaktor-α stimuliert wird (TSST-1 als „Superantigen“). **Superantigene** sind eine neue Klasse von Molekülen, die mit hoher Potenz T-Lymphozyten stimulieren. Auch einige Enterotoxine gehören zu dieser besonderen Antigenklasse.

Weitere Enzyme und Toxine. *S. aureus*-Stämme sind meist in der Lage, noch weitere Enzyme und Toxine zu bilden und extrazellulär abzugeben, wie z.B. *Lipasen, Nukleasen* und *Proteasen*. Eine der drei bekannt gewordenen Staphylokokken-Proteasen kann zu einer Pseudokoagulation von Plasma führen, indem proteolytisch Prothrombin aktiviert und damit die Blutgerinnung ausgelöst wird.

Bacteriocine. Viele *S. aureus*-Stämme sind in der Lage, Bacteriocine oder andere wachstumshemmende Substanzen zu produzieren. Wahrscheinlich werden sie gebildet, um dem Produzenten einen Wachstumsvorteil durch Hemmung der kompetitiven gram-positiven Mischflora seiner Umgebung zu verschaffen.

Persistenz. Die meisten *S. aureus*-Stämme besitzen die Fähigkeit zur extra- und intrazellulären Persistenz. Zugrunde liegt ein besonderer Phänotyp – „Small Colony Variant“ (SCV) –, der ein verzögertes Wachstum, kleinere Koloniegröße und eine drastisch reduzierte Stoffwechselaktivität (Koagulase, α-Toxin) zeigt. Dieser SCV-Phänotyp kann revertieren und beruht auf komplexen regulativ bedingten Änderungen im Elektronentransportsystem (z.B. Hämin-Auxotrophismus).

Pathogenese und Klinik

Die durch *S. aureus* verursachten Erkrankungen lassen sich in pyogene invasive Prozesse und toxinvermittelte Erkrankungen einteilen. Bei den **invasiven Prozessen** kommt es nach Infektion und *in situ*-Vermehrung zur fortschreitenden Schädigung durch den jeweiligen *S. aureus*-Stamm, bedingt durch die Gesamtaktivität seiner Virulenzfaktoren (Kapsel, Protein A, Zellwandbestandteile, extrazelluläre Produkte, s.o.). Keiner dieser Faktoren ist für sich allein entscheidend für die Staphylokokken-Virulenz. Die Schwere der Erkrankung wird durch Infektionsort, Abwehrlage des Patienten und Virulenz des Infektionsstammes festgelegt. Im Gegensatz dazu kommt bei den **Toxin-vermittelten Erkrankungen** einem bestimmten Toxin die entscheidende pathogenetische Bedeutung zu. Dabei kann der eigentliche (Infektions-) Herd, wo die Toxinproduktion stattfindet, klinisch inapparent bleiben, im Falle der Enterotoxin-bedingten Gastroenteritis findet die Toxinproduktion sogar überwiegend außerhalb des Patienten statt (in Lebensmitteln).

Invasive S. aureus-Erkrankungen

Man unterscheidet lokal-oberflächliche von tiefen, bzw. systemischen Prozessen. Eine häufige und typische *S. aureus*-Infektion ist der **Furunkel,** ein in der Haut von Talgdrüsen oder Haarbälgen ausgehender „Mini“-Abszeß: ein zentraler eitriger Einschmelzungsherd aus Bakterien und Granulozyten wird von einer „Abszeßwand“ aus Fibrin und Entzündungszellen abgegrenzt.

> Mehrere, zusammenfließende Furunkel werden als Karbunkel bezeichnet. Weitere oberflächliche Prozesse sind die Pyodermie (meist Mischinfektionen mit *Streptococcos pyogenes,* Impetigo contagiosa) und Wundinfektionen.

Die eitrige **Parotitis** ist pathognomonisch mit *S. aureus* verbunden, ebenso die **Mastitis puerperalis**. Auch die primär hämatogene **Osteomyelitis,** eine vor allem im Kindesalter häufige und zum Teil schwer verlaufende Allgemeinerkrankung, ist eine Domäne von *S. aureus*. Die *sekundäre Osteomyelitis* (postoperativ, posttraumtisch) ist durch einen häufig chronischen Verlauf belastet. Die ***S. aureus*-Pneumonie** tritt meist sekundär nach Viruspneumonien (Influenza!) auf oder auch nach Aspiration, sie neigt zur Abszedierung und ist immer noch mit einer relativ hohen Letalität behaftet (häufig sind Mischinfektionen zu beobachten). **Abszesse** durch *S. aureus* können sowohl in Weichteilen als auch in Organen auftreten, **Empyeme** in Körperhöhlen (Pleura) und Gelenken. Sämtliche oberflächliche und tiefe Prozesse können eine Keimeinschwemmung in die Blutbahn nach sich ziehen und damit zur **Endokarditis** oder **Sepsis** führen. Die akute ulzeröse Endokarditis verläuft zum Teil sehr foudroyant, mit der Gefahr der progredienten Klappenzerstörung.

Eine Sonderform der Endokarditis ist die **Rechtsherzendokarditis** bei Heroinsüchtigen.

Jede *S. aureus*-Sepsis kann in einen häufig irreversiblen septischen Schock münden. Pathogenetisch kommt hier der biologischen Wirkung des Peptidoglykans, des α-Toxins und der Superantigene (TSST-1, Enterotoxin B) die entscheidende Bedeutung zu. Hämodialyseshunt- und Gefäßprotheseninfektionen sind typische *S. aureus*-**Fremdkörperinfektionen,** aber auch andere Plastikfremdkörper können mit *S. aureus* infiziert werden. Bei subakuten/chronischen, rezidivierenden *S. aureus*-Infektionen spielt offensichtlich der „Small Colony Variant"-Phänotyp eine besondere Rolle.

Toxinvermittelte S. aureus-Erkrankungen

Die generalisierte Form des **Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS)** tritt vorwiegend bei Säuglingen (M. Ritter von Rittershain) und Kleinkindern auf. Der Krankheitsbeginn ist abrupt mit generalisiertem Erythem (**erythematöses Stadium**) und Fieber. Nach wenigen Stunden kommt es zur großflächigen Epidermolyse mit Blasenbildung, das Nikolski-Zeichen ist positiv in allen Hautbereichen (**epidermolytisches Stadium**). Klinisch imponiert das Bild der „verbrühten Haut", ähnlich einer Verbrennung vom Stadium I–IIa. Nach Ablösung der oberen Epidermisschicht verkrusten die befallenen Hautareale, unter den Krusten erscheinen die neugebildeten oberen Epidermisanteile (**regeneratives Stadium).** Pathogenetisch zugrunde liegt eine *intraepidermale* Spaltbildung mit folgendem Ödem zwischen dem unterem Stratum spinosum und dem oberem Stratum granulosum (Zelldesintegration durch die Exfoliativtoxinwirkung). Differentialdiagnostisch läßt sich die schwerste Form des Arzneimittelexanthems, das **Lyell-Syndrom,** histologisch sicher abgrenzen: hier ist die Spaltbildung *subepidermal*. Die Er-

Das **Toxic Shock Syndrome (TSS)** wurde erstmals 1978 als Krankheitsentität beschrieben. Die im Zusammenhang mit der Menstruation auftretende Form **(menstruelles TSS)** ist wesentlich häufiger als das nichtmenstruelle TSS, betroffen sind vor allem junge Frauen. Das Vollbild des TSS imponiert durch die obligaten Leitsymptome Fieber, Hypotonie und Exanthem in der Akut- und Desquamation in der Rekonvaleszenzphase. Das Exanthem ist scarlatiniform bis hin zur Erythrodermie. Prädilektionsstellen sind die Extremitäten, Schultergürtel und Stamm, der Kopf bleibt meistens ausgespart. Die groblamellöse Schuppung ist an Palmar- bzw. Plantarflächen von Händen und Füßen besonders ausgeprägt. Obligat ist auch die Beeinträchtigung mindestens zweier weiterer Organsysteme: Es entsteht ein symptomenreiches klinisches Bild, da meistens mehrere Organe in ihrer Funktion bis hin zum völligen Versagen eingeschränkt werden (Herz-Kreislauf-Versagen, respiratorische Insuffizienz, Bewußtseinsstörungen etc.). Die pathogenetische Kaskade wird durch die direkte Wirkung des „Toxic Shock Syndrome Toxins-1", (TSST-1, s.o.) sowie durch die Gewebshypoxie nach Minderdurchblutung, bedingt durch den protrahierten Schockzustand, bestimmt. Die Letalität des fulminanten Krankheitsbildes liegt bei 5–8%. Häufige Spätfolgen sind chronische Niereninsuffizienz, Extremitätengangrän, Karpal-Tunnel-Syndrom und Verhaltensstörungen. Die klinische Diagnose des Vollbildes ist relativ einfach, die der milden Verlaufsformen (Prä-TSS) nur schwer möglich. Klinisch-chemische Parameter sind unspezifisch, auffallend sind lediglich Hypokalzämie (ionisiertes Ca^{2+}) bei gleichzeitiger Hyperkalzitoninämie. Spezifische Antikörper spielen offenbar eine wesentliche Rolle in der Protektion gegen das TSS. Der Antikörperkataster steigt mit zunehmendem Lebensalter exponentiell an. Der frühzeitige Kontakt mit

Schleimhautflora von Mensch und Tieren vor, die der Gattung *Stomatococcus* (früher *Micrococcus mucilaginosus)* vorwiegend in der normalen Mund- und Rachenflora. Über ihre physiologische Bedeutung ist wenig bekannt. Ihr Auftreten als Krankheitserreger ist selten. Mikrokokken sind aus Blutkulturen von immunsupprimierten Patienten und bei Prothesenendokarditis isoliert worden, Stomatokokken wurden als Endokarditiserreger beschrieben. Weitergehende Bewertungen sind zur Zeit nicht möglich, ihre klinisch-praktische Bedeutung ist aber wahrscheinlich zu vernachlässigen. Die Therapie ist zudem problemlos, da die Stämme nahezu ausnahmslos voll empfindlich sind. „Mikrokokken" lassen sich diagnostisch durch Plasmakoagulase, Clumpingfaktor und Protein A (alles negativ) von *S. aureus* und z.B. durch die Bacitracin-Empfindlichkeit von den koagulasenegativen Staphylokokken abgrenzen. Schon rein morphologisch lassen sich die pigmentierten Vertreter (am häufigsten) auf der Blutplatte erkennen: *M. luteus* ist zitronengelb, *M. roseus* rot bis rosa und *M. lyae* sowie *M. kristinae* sind weiß bis gelblich und können daher mit Staphylokokken verwechselt werden, wie auch *Stomatococcus mucilaginosus*. Die exakte Subspezifizierung ist nicht erforderlich; zudem wurde ihre Taxonomie völlig revidiert (s. Einleitung).

Literatur

CROSSLEY, K.B., and G.L. ARCHER: The staphylococci in human disease. Churchill Livingstone Inc. New York, Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, San Francisco, Tokyo, 1997.

HEILMANN, C., and G. PETERS: Biology and pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis*. In: FISCHETTI, V. A., R.-P. NOVICK, J. J. FERRETT, A. PORTNOY, and J. I. ROOD (eds.): Gram-Positive Pathogens, S. 442–449, ASM-press, Washington, DC 2000.

MÖLLBY, R., J.I. FLOCK, C.E. NORD and B. CHRISTENSSON: Staphylococci and staphylococcal infections. Zbl. Bakt. Suppl. 26, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart – New York, 1994.

PETERS, G., and F. SCHUMACHER-PERDREAU: Micrococcaceae. In: F. BURKHARDT (Hrsg.): Mikrobiologische Diagnostik, S. 68–74, Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York, 1992.

PROCTOR, R.A., and G. PETERS: Small Colony Variants in staphylococcal infections: Diagnostic and therapeutic implications. Clin. Infect. Dis. 27: 419–423, 1998.

4.2 Die Familie der Streptococcaceae

ANDREAS PODBIELSKI, RUDOLF LÜTTICKEN

Streptokokken sind gram-positive Diplo- oder Kettenkokken. Die Familie umfaßt mehr als ein Dutzend pathogene und zahlreiche apathogene Spezies. Viele Arten haben einen hohen wirtschaftlichen Nutzen, z.B. bei der Prozessierung von Milch- und Fleischprodukten. Andere besiedeln bzw. infizieren primär die Haut und Schleimhaut des Respirations- und Verdauungstraktes von Tieren und Menschen. Streptokokken gehören zu den häufigsten bakteriellen Krankheitserregern. Die wichtigsten humanpathogenen Arten sind *Streptococcus pyogenes* (Gruppe A-Streptokokken), der Erreger von Pharyngotonsillitiden und Pyodermien, *S. agalactiae* (Gruppe B-Streptokokken), ein Erreger der Neugeborenensepsis, *S. pneumoniae* (Pneumokokken), ein Erreger von Pneumonien und Meningitiden, *S. mutans*, der wichtigste Karieserreger, verschiedene vergrünende Streptokokken als Erreger der Endokarditis lenta und *Enterococcus faecalis* sowie *E. faecium*, Erreger von Endokarditiden, Harnwegs- und Krankenhausinfektionen.

Einige Streptokokken-bedingte Erkrankungen wie das Kindbettfieber, die Wundrose und Phlegmone waren schon in der Antike als eigenständige Erkrankungen bekannt. In der 2. Hälfte des 19. Jahrhunderts ermöglichte die Arbeit zahlreicher Ärzte (z.B. BILLROTH, 1868; CHEYNE, 1877; OGSTON, 1881; ROSENBACH, 1884; WIDAL, 1889) die ätiologische Zuordnung dieser Erkrankungen zur Infektion mit Streptokokken. Die Bezeichnung *Streptococcus* stammt von BILLROTH (1874). Sie orientierte sich am mikroskopischen Bild der Bakterien (Streptos (gr.): Kette; kokkos (gr.): Beere, Samenkorn). Abgesehen von den Pneumokokken (STERNBERG, 1881; PASTEUR, 1881; FRÄNKEL, 1884) gelang es erst in den ersten drei Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts, einzelne Streptokokken-Arten serologisch und biochemisch zu unterscheiden.

Eigenschaften der Streptokokken

Systematik

Alle Spezies der Streptokokken-Familie sind gram-positive sporenlose Kokken oder kokkoide Stäbchen mit einem Durchmesser von < 2 µm.

Sie bilden keine Eisen-Porphyrinverbindungen und können daher energiereiche organische

Substanzen nicht über die Atmungskette, sondern nur durch Fermentation (häufig zur Milchsäure) nutzen. Sie bilden zudem keine Katalase. Durch das Fehlen dieser effizienten Entgiftungsmöglichkeit für toxische Sauerstoffverbindungen wächst die Mehrzahl der Arten besser in Gegenwart von erhöhten CO_2-Mengen bzw. unter anaeroben Bedingungen als unter aeroben. In der ersten umfassenden Klassifizierung (SHERMAN, 1937) wurde die Familie der *Streptococcaceae* in vier Gruppen geordnet: Pyogene-, Viridans- und Milchsäure-Streptokokken sowie Enterokokken. Die Bezeichnung Viridans-Streptokokken, die zahlreiche α- und nicht-hämolysierende (s.u.) Gattungen und Arten umfaßt, wird auch heute noch von Klinikern verwendet. Die aktuelle Klassifizierung in 13 Gattungen (Tab. 4.3) beruht auf der Erfassung biochemischer Leistungen und auf DNA-Hybridisierungen bzw. -Sequenzierungen. Zu den Gattungen *Streptococcus* und *Enterococcus* können zur Zeit mit diesen Mitteln gesichert 31 bzw. 17 Arten gezählt werden. Die Gattung *Streptococcus* wird in **sechs genetisch verwandte Gruppen** aufgeteilt: Pyogene Gruppe (z.B. *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, Streptokokken der serologischen Gruppen C und G), *S. mitis*- (z.B. *S. pneumoniae*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. gordonii*), *S. salivarius*-, *S. anginosus*-, *S. mutans*- und *S. bovis*-Gruppe. Die herausragende medizinische und ökonomische Bedeutung der einzelnen Vertreter der *Streptococcaceae* dokumentiert sich darin, daß im Vergleich zu allen anderen Familien bisher die mit Abstand größte Zahl von Spezies Gegenstand von Genomsequenzierungsprojekten war.

Morphologie

Durch Teilung in nur einer Ebene wachsen die Vertreter der Gattungen *Abiotrophia*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* und *Vagococcus* zu Bakterienketten aus. Die Vertreter der Gattungen *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Gemella*, *Helcococcus*, *Pediococcus* und *Tetragenococcus* wachsen dagegen eher in Paaren (Diplokokken) oder durch Teilung in einer weiteren Ebene in Tetraden.

Kultur

Infolge einer hochgradigen Spezialisierung und Anpassung an eine besondere Umgebung benötigen die meisten Gattungen der Familie die Anwesenheit von komplexen Substanzen im Nährmedium, sind also bezüglich ihrer Kulturbedingungen **anspruchsvolle Bakterien**. Die komplexen Nährstoffbedürfnisse können durch

Tab. 4.3 Einfache biochemische und physiologische Differenzierung von Gattungen innerhalb der Familie der *Streptococcaceae*

Genus	PYR	LAP	VAN	Gas	Äsculin	NaCl	Beweglichkeit	Hämolyse
Streptococcus	V	+	S	–	V	V	–	α, β, n
Enterococcus	+	+	(S)	–	+	+	V	α, β, n
Abiotrophia	+	+	S	–	–	–	–	α
Aerococcus	§	§	S	–	V	+	–	α
Alloiococcus	+	+	S	–	+	+	–	α
Gemella	+	V	S	–	–	–	–	α, n
Globicatella	+	–	S	–	+	+	–	α
Helcococcus	+	–	S	–	+	V	–	n
Lactococcus	V	+	S	–	(+)	V	–	α, n
Leuconostoc	–	–	R	+	V	V	–	α, n
Pediococcus	–	+	R	–	(+)	V	–	α
Tetragenococcus	–	+	S	–	+	+	–	α
Vagococcus	+	+	S	–	+	+	+	α, n

Abkürzungen: PYR, LAP = Produktion von Pyrrolidonyl-Arylamidase bzw. Leucin-Aminopeptidase; VAN = Vancomycin-Empfindlichkeit; Gas = Gasbildung aus Glucose; Äsculin = Ä.-Spaltung; NaCl = Wachstum in Gegenwart von 6,5% NaCl.
+, (+) = mehr als 95% (80%) der Isolate zeigen die Eigenschaft; –, (–) = weniger als 5% (20%) der Isolate zeigen die Eigenschaft; V = 20–80% der Isolate zeigen die Eigenschaft; S, (S), R = mehr als 99% (95%) der Isolate sind sensibel/resistent; α, β, n = α-, β-, nicht-hämolysierend; § *Aerococcus viridans* und *A. urinae* unterscheiden sich in PYR: + bzw. – und LAP: – bzw. +.

Zusatz von Blut („Schafsblutagar"), Serum, peptisch-verdautem Fleischextrakt („Rinder-Hirn-Herz-Bouillon") oder Hefeextrakt („Todd-Hewitt-Hefeextrakt-Medium") zu Standardmedien gedeckt werden. Die ausschließlich Tier- oder Mensch-besiedelnden Arten haben zudem ein **enges Temperatur- und pH-Wert-Spektrum**, das den Verhältnissen im jeweiligen Wirt entspricht. *Abiotrophia* braucht zum Wachstum Pyridoxal (Vitamin B_6) oder L-Cystein. Deswegen wurden Bakterien dieser Gattung bis 1995 als „Pyridoxal-abhängige Streptokokken" bezeichnet.

Biochemische Differenzierung

Die einzelnen Gattungen innerhalb der Familie können durch wenige biochemische und physiologische Tests (s. Tab. 4.3) vorläufig differenziert werden.

Eine althergebrachte (SCHOTTMÜLLER, 1903) Einteilung der Streptokokken beruht auf ihrem

das Peroxid empfindlicher als die Streptokokken selbst reagieren.

Einige Spezies aus der Familie sind grundsätzlich oder unter bestimmten Kulturbedingungen nicht zu einer der beiden Hämolyseformen fähig. Diese Streptokokken bezeichnet man als **nicht-hämolysierend** (gelegentlich fälschlich als „γ-Hämolyse" bezeichnet).

Weitere traditionelle Differenzierungsschemata für Streptokokken beruhen auf serologischen Methoden. Für die Speziesdifferenzierung der β-hämolysierenden Streptokokken und für eine epidemiologische Typisierung von mehreren Arten der Familie sind diese Methoden auch weiterhin wertvoll. Allerdings finden sich die durch diese Methoden nachgewiesenen Antigene auch bei Isolaten verschiedener Spezies. Daher reichen die serologischen Methoden für eine vollständige oder abschließende Differenzierung der Streptokokken nicht aus.

Drei Oberflächenantigene können in diagnostischen Laboratorien differenziert werden: das Zellwand-Polysaccharid, M-Proteine und Kap-

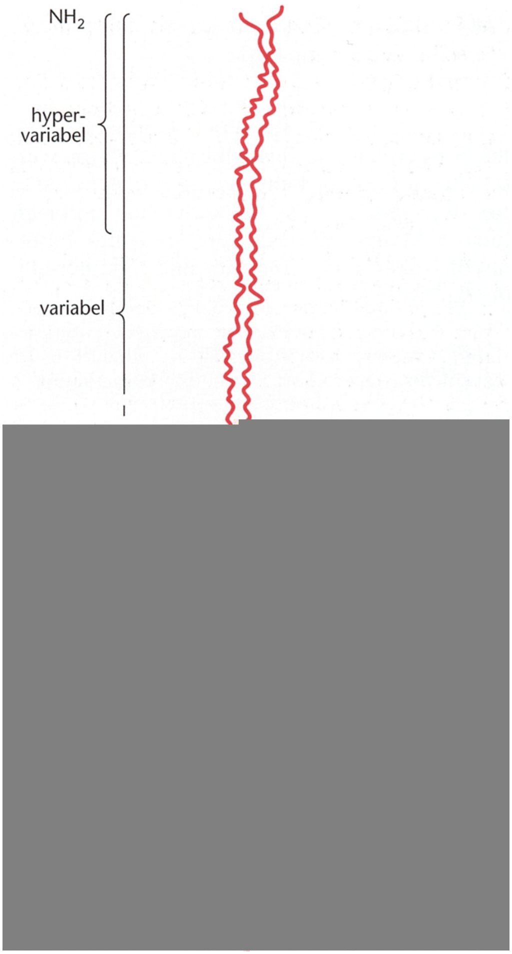


Abb. 4.4 Schematische Darstellung zweier M-Protein-Moleküle (rot) von *Streptococcus pyogenes* (in Anlehnung an FISCHETTI, V.A.: Clin. Microbiol. Rev. 2. 285–314, 1989). Das bei den verschiedenen Serotypen variable N-terminale Ende der Moleküle ist nach außen gerichtet; das C-terminale Ende ist nach dem Einwirken einer Transpeptidase wahrscheinlich ausschließlich in der Zellwand verankert.

tokokken-Spezies gebildet. Sie dienen den Bakterien zur Hemmung der Phagozytose durch Granulozyten und Makrophagen. Innerhalb einer Spezies sind die Kapsel-Polysaccharide in der Mehrzahl gleichförmig. Allerdings finden sich insbesondere bei *S. pneumoniae* (Pneumokokken), *S. agalactiae* (Gruppe B-Streptokokken) und *S. suis* biochemische und in der Folge auch antigenetische Unterschiede beim Kapselmaterial. Dies ist z.B. im Fall der Pneumokokken Grundlage einer Kapseltyp-spezifischen Immunität des Menschen. Serologisch und teilweise nach Sequenzierung der verantwortlichen Synthese-Operons auch auf DNA-Ebene können bei Pneumokokken >90 und bei Gruppe B-Streptokokken 9 Kapseltypen unterschieden werden.

Klinische Bedeutung

Außer den Vertretern der Gattungen *Streptococcus* und *Enterococcus* werden die anderen Gattungen nur selten oder nie aus Material von Infektionen des Menschen isoliert. Am relativ häufigsten findet man *Abiotrophia* in Verbindung mit der Endocarditis lenta, *Alloiococcus* bei der chronischen Otitis media, *Aerococcus* bei Harnwegsinfekten, *Gemella* bei Endocarditis lenta sowie Meningitis, *Helcococcus* bei Wundinfektionen sowie *Leuconostoc* bei Sepsis, Meningitis oder Peritonitis von Neugeborenen und abwehrgeschwächten Erwachsenen.

4.2.1 Streptococcus pyogenes (Gruppe A-Streptokokken) und Streptokokken der serologischen Gruppen C und G

S. pyogenes ist ein ausschließlich human-pathogenes Bakterium, das häufig eitrige Infektionen der Haut (z.B. Pyodermien) und Schleimhäute (z.B. Pharyngitiden) verursacht, seltener auch invasive Infektionen mit vitaler Gefährdung

4

liert, daß die betroffenen Personen kreuzreagierende Antikörper produzieren. Diese richten sich eigentlich gegen Streptokokkenproteine wie vielleicht das M-Protein oder die Streptokinase. Die Reaktion dieser Antikörper mit Proteinen des Herzmuskels und der Synovialis oder die Ablagerung dieser Antikörper in Form von Immunkomplexen in den Glomeruli, die Bildung von Superantigenen seitens der Bakterien und mögliche Defekte in der begrenzenden Steuerung des Immunsystems führen dann zu den pathologischen Veränderungen der beiden Krankheitsbilder. Bisher ungeklärt ist, warum das ARF nur nach einer Pharyngitis mit *S. pyogenes,* die AGN aber nach Pharyngitis oder Pyodermien mit *S. pyogenes* und Gruppe G-Streptokokken auftritt.

Klinik

Nach ihrer Lokalisation können durch *S. pyogenes* sowie Gruppe C- und G-Streptokokken bedingte Infektionen in drei Gruppen eingeteilt werden:

Enanthem. Spätestens nach zwei Wochen endet die Erkrankung, häufig unter grob-lamellärer Schuppung der Handflächen und Fußsohlen (Abb. 4.5, Farbtafel).

Hautinfektionen können sich als pustulös-eitrige **Pyodermien** manifestieren. Nach einer Inkubationszeit von wenigen Tagen sind insbesondere Kinder im Alter von zwei bis sechs Jahren betroffen. Pyodermien sind häufig Mischinfektionen zusammen mit *Staphylococcus aureus* (Impetigo contagiosa), deren Genese mit einem engen sozialen Zusammenleben (Kindergarten) und mangelnder Hygiene in Verbindung steht.

Das **Erysipel** tritt nach kleinen Verletzungen insbesondere im Gesicht und an den Beinen auf und betrifft tiefere Hautschichten. Es zeichnet sich durch eine rasch fortschreitende, scharf begrenzte, schmerzhafte Hautrötung und Fieber aus (Abb. 4.6, Farbtafel). Nach tiefen Verletzungen und Operationen kann es zur **Phlegmone,** einer eitrigen Infektion der Subkutis und der Faszien, kommen. Weitergehende Komplikationen mit einer ungünstigen Prognose sind die *Fasciitis necroticans* und die *Myositis* mit ausge-

henden Schwellungen der großen Gelenke. Eine Endocarditis verrucosa besonders im Bereich der Herzklappen verursacht bleibende Schäden („leckt an den Gelenken, beißt ins Herz"). Seltener ist eine Enzephalitis, die sich als *Chorea minor* manifestiert.
Ungefähr zehn Tage nach einer Pharyngitis oder drei Wochen nach einer Hautinfektion kann es besonders bei Zwei- bis Sechsjährigen zur AGN kommen. Sie äußert sich durch Ödeme, Hypertension und Erythrozyturie. In der überwiegenden Zahl der Fälle besteht eine günstige Prognose. Als weitere Gruppe A-Streptokokken-assoziierter Folgeerkrankungen werden Exazerbationen der Psoriasis und neurologische Ticks („obsessive-compulsive disorders", OCD) diskutiert.

Laboratoriumsdiagnose

Das **Untersuchungsmaterial** für einen kulturellen Nachweis β-hämolysierender Streptokokken wird durch Abstriche mit einem sterilen Wattetupfer, bei tiefen Infektionen durch Punktion oder Biopsie gewonnen. Bei vitaler Indikation und Materialien aus sonst sterilen Körperregionen sollte ein Präparat für eine mikroskopische Begutachtung gefertigt werden (Abb. 4.7, Farbtafel). Die Einsendung in das Labor erfolgt in einem geeigneten Transportmedium, um die Nachweisausbeute zu erhöhen. Die **Kultivierung** erfolgt mittels 3-Ösen-Ausstrichtechnik auf Schafsblutagar und Bebrütung in CO_2-angereicherter Atmosphäre. Nach ein bis zwei Tagen wachsen typisch aussehende Kolonien, deren Gruppenantigen (C-Substanz) serologisch differenziert wird. Eine weitergehende Charakterisierung einzelner Stämme z.B. zur Aufdeckung von Infektionsketten ist aufwendig und wird nur von Speziallaboratorien durchgeführt.

> Innerhalb von Minuten durchführbare Tests zum Nachweis des A-Streptokokken-Gruppenantigens direkt aus dem Abstrich gestatten eine Diagnostik noch im Beisein des Patienten.

Dem Vorteil einer schnellen Diagnose steht der Nachteil einer geringen Sensitivität gegenüber. Bei negativem Ausfall des **Schnelltests** sollte noch ein kultureller Nachweis versucht werden.
Eine **serologische Diagnostik** ist nur bei Verdacht auf Bestehen einer nicht-eitrigen Folgeerkrankung indiziert. In diesen Fällen bleibt der kulturelle Nachweis häufig erfolglos, während spezifische Antikörper ca. zwei Wochen nach Beginn der eitrigen Infektion nachweisbar werden. Diese Antikörper richten sich gegen Exoproteine der β-hämolysierenden Streptokokken. Typischerweise werden die Antikörper gegen das Streptolysin O (**Antistreptolysin O;** Abk.: ASL, ASO oder AST) und die DNase B (**Anti-desoxyribonuklease B;** Abk.: ADB, Anti-DNase B, Anti-Streptodornase B) quantifiziert. Die Meßergebnisse werden in internationalen Einheiten (bezogen auf einen WHO Standard) angegeben. Da Gruppe C- und G-Streptokokken ebenfalls Streptolysin O bilden, können ASL-Titer auch bei Infektionen mit C- und G-Streptokokokken vorkommen.
Für die **Bewertung** „frische Infektion" ist der Nachweis eines Titeranstiegs die sicherste Grundlage. Daneben kennt man Basistiter (ASL < 160 IE, ADB < 240 IE), deren deutliches Überschreiten zumindest einen Hinweis auf eine entsprechende Infektion liefert. Nach einer Infektion sind die Titer meist merklich erhöht und können für einige Monate auf diesem Niveau bleiben. Selektiv erhöhte ADB-Titer deuten auf eine vorangegangene Hautinfektion durch Gruppe A-Streptokokken hin.

Therapie

> Jede symptomatische *S. pyogenes*-Infektion sollte durch systemische Antibiotikagabe therapiert werden.

Für Gruppe C- und G-Streptokokken trifft dies mindestens bei tiefen und invasiven Infektionen zu. Therapeutikum der Wahl ist Penicillin, welches bei leichteren Infektionen über zehn Tage per os verabreicht wird. Eine kürzere Therapiedauer erhöht die Gefahr des Wiederauftretens der Infektion. Alternative Therapieschemata mit fünftägiger Gabe eines Oral-Cephalosporins oder neueren Makrolid-Antibiotikums scheinen der Penicillintherapie ebenbürtig zu sein. Makrolide sind auch bei Penicillinallergie Mittel der Wahl. Allerdings ist zu beachten, daß wechselnd hohe Resistenzraten gegenüber Makroliden bestehen (daher unbedingt Resistenztestung durchführen), während eine Penicillin-Resistenz bei β-hämolysierenden Streptokokken der Gruppen A, C und G bisher noch nicht nachgewiesen wurde. Symptomlose Keimträger werden wegen des bisher nicht nachgewiesenen therapeutischen Wertes und zur Vermeidung

unnötiger Resistenzentwicklungen nicht behandelt.
Bei schweren Infektionen insbesondere mit *S. pyogenes* ist häufig eine chirurgische Therapie zwingend notwendig. Ferner wird initial auch Clindamycin und polyvalentes Immunglobulin verabreicht.

Epidemiologie und Bekämpfung

Bei bis zu 20% der Bevölkerung ist der obere Respirationstrakt symptomlos mit β-hämolysierenden Streptokokken kolonisiert.

Die Ansteckung geht aber effizienter von akut Erkrankten aus. Die **Übertragung** der β-hämolysierenden Streptokokken erfolgt durch Tröpfchen- oder Schmier-Infektion, selten auch durch kontaminierte Lebensmittel. Die Empfänglichkeit für *S. pyogenes* ist besonders im Alter von drei bis zwölf Jahren hoch, während Gruppe C- und G-Streptokokken am häufigsten 15- bis 20-Jährige infizieren.
Nach dem jetzt geltenden Infektionsschutzgesetz ist Scharlach **nicht meldepflichtig.** Daher liegen keine umfassenden Zahlen zur Inzidenz der Infektionen durch β-hämolysierende Streptokokken vor. Auf Grund der in Deutschland ambulant verabreichten Oral-Penicillin-Menge ist von ca. 1 Million Erkrankungen pro Jahr auszugehen.
Zur **Prophylaxe** von Epidemien bestehen besondere Empfehlungen bezüglich des Kindergarten- oder Schulbesuchs infizierter Personen. Bei diesen ist davon auszugehen, daß sie nach einem Tag suffizienter Therapie nicht mehr ansteckend sind. Eine Rezidivprophylaxe mit Oralpenicillinen über mindestens 5 Jahre ist nach einem ARF indiziert.
Obwohl Gegenstand einiger Forschungsprojekte, ist eine **Schutzimpfung** gegen *S. pyogenes* in den nächsten Jahren noch nicht absehbar.

4.2.2 Streptococcus agalactiae (Gruppe-B-Streptokokken)

S. agalactiae ist ein **tier- und humanpathogenes Bakterium**. Tierpathogene Stämme (z.B. Erreger der Mastitis der Rinder) sind genetisch deutlich von humanpathogenen Stämmen verschieden, so daß eine Infektion des Menschen durch tierpathogene Stämme kaum vorkommt. Humanpathogene Stämme infizieren insbesondere Neugeborene sowie Schwangere und Erwachsene mit Grunderkrankungen wie Diabetes mellitus, Tumoren und Schädigungen des Immunsystems.

Eigenschaften der Gruppe-B-Streptokokken

Auch *S. agalactiae* zeigt bei Wachstum auf Schafsblutagar eine β-Hämolyse, die meist deutlich schwächer ausgeprägt ist als die von *S. pyogenes*. Einfache Tests zur Bestätigung der Identität von *S. agalactiae* sind die orange-bräunliche Pigmentbildung der Kolonien bei anaerober Anzucht und der Nachweis des CAMP-Faktors, eines Co-Hämolysins.

Pathogenese

Im Vergleich zu *S. pyogenes* oder Pneumokokken haben größere Schwierigkeiten bei der genetischen Manipulation der Gruppe B-Streptokokken eine ähnlich umfassende Analyse von deren Virulenzfaktoren und Regulationsmechanismen bisher verwehrt.
Trotzdem wurden einige **Virulenzfaktoren** schon eingehend charakterisiert. Bei den invasiven Infektionen der Neugeborenen spielt offenbar die **Kapsel** eine entscheidende Rolle. Zur Erkennung und Opsonisierung der verschiedenen Kapseltypen (Ia, Ib, Ic, II–VIII) müssen Typ-spezifische Antikörper vorhanden sein. Bei Müttern von infizierten Neugeborenen werden häufig sehr niedrige Antikörperspiegel gegen den Kapseltyp des verantwortlichen Gruppe-B-Streptokokken-Stammes gefunden, so daß der passive Schutz der Kinder durch Antikörper ihrer Mütter in solchen Fällen wahrscheinlich nicht ausreicht.
Für jegliche Art von Infektionen durch Gruppe B-Streptokokken ist die Expression von Laminin-bindenden Oberflächenproteinen und des Hämolysins wichtig.

Seitens der Patienten ist bei der Neugeborenen-Infektion die Reife des Kindes von ausschlaggebender Bedeutung.

Je unreifer das T-Zellsystem der Kinder ist, desto höher ist deren Infektionsrisiko und desto weniger Symptome bieten sie trotz einer Sepsis.

Klinik

Bei den potentiell dramatisch verlaufenden Neugeborenen-Infektionen unterscheidet man

zwischen zwei Infektionstypen. Beim häufigeren „**early-onset“-Typ** stammen die infizierenden Bakterien von der vaginal besiedelten Mutter. Sie werden meist prä- oder perinatal, ansonsten durch Stillen auf das Kind übertragen, so daß es innerhalb der ersten Lebensstunden bis acht Lebenstage zu einer Sepsis kommt. Diese äußert sich durch eine gestörte Hautperfusion und Atemstörungen. Trotz Therapie kann die Letalität bis zu 6% betragen. Beim selteneren „**late-onset“-Typ** erfolgt die Bakterienübertragung wahrscheinlich aus der Umgebung des Kindes (Krankenhauspersonal, Mutter) ein bis sechs Wochen nach Geburt. Klinisch auffällig werden die Kinder durch eine Meningitis. Die Letalität im Vollbild des entzündlichen Hirnödems liegt bei 25%, zudem kann es zu Defektheilungen kommen.

Kommt es während der Schwangerschaft zur Infektion des Feten, so können daraus Frühgeburtlichkeit, vorzeitiger Blasensprung oder septischer Abort resultieren.

Infektionen in höherem Alter äußern sich als Haut- und Harnwegsinfektionen, seltener als Endokarditis, Osteomyelitis, Pneumonie oder Peritonitis. Im Zusammenhang mit den oben aufgeführten Grunderkrankungen sind häufig Patienten in Heimen oder Krankenhäusern betroffen.

Laboratoriumsdiagnose

Untersuchungsmaterial ist je nach klinischem Bild Blut oder Liquor bzw. Abstriche der besiedelten oder infizierten Stellen, ggfs. auch Urin. Für die Untersuchung Schwangerer im letzten Trimenon werden Vaginal- und Rektalabstriche, für ein prophylaktisches Neugeborenen-Screening Ohr- und Rachen-Abstriche sowie Magensaft verwendet. Für den Erregernachweis und das Antibiogramm erfolgt eine kulturelle Anzucht. Die Verwendung einer Anreicherungsbouillon für wenige Stunden mit nachfolgender Kultur auf festem Medium erlaubt einen sensitiven Nachweis innerhalb von 24 bis 48 h. In Deutschland werden auch „Schnellkulturmedien“ verwendet, die auf dem Nachweis eines *S. agalactiae*-typischen Pigments innerhalb von 18–24 h beruhen.
Serologische Nachweismethoden existieren nur für Forschungsaufgaben.

Therapie

Therapeutikum der Wahl sind **Penicilline**. Bei Neugeborenen- und invasiven Infektionen bei anderen Altersgruppen werden Ampicillin plus Aminoglykoside über mindestens zehn Tage verabreicht. Bei vaginal besiedelten Müttern wird eine Prophylaxe der Neugeborenen-Infektion durch Gabe von Penicillin G oder Ampicillin in festgelegten mehrstündigen Intervallen vor der Geburt erreicht. Gleiches gilt auch für Mütter mit Risikofaktoren (z.B. Fieber, deutliche Entzündungszeichen, vorzeitiger Blasensprung, kindliche Unreife, vorangegangene Geburt mit „early onset“ Infektion) ohne den Nachweis einer vaginalen Besiedlung.

Epidemiologie und Bekämpfung

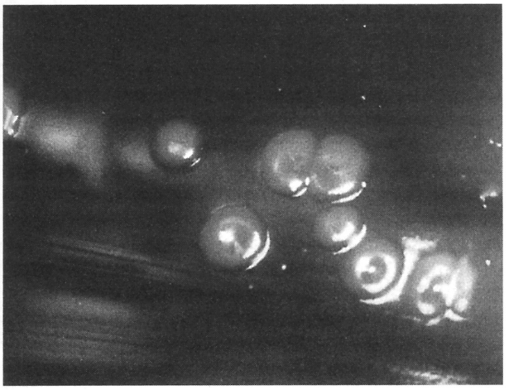
Die allgemeine Kolonisations- und Infektionsrate durch *S. agalactiae* ist aufgrund der mangelnden Erfassung unbekannt. Die vaginale Kolonisationsrate bei Schwangeren ist von sozialen Faktoren abhängig und schwankt zwischen 5 und 20%. Ohne Antibiotika-Prophylaxe werden die Bakterien in 50% der Fälle von der besiedelten Mutter auf das Kind übertragen. Davon erkranken zwischen 1% (reife Kinder) und 100% (extreme Frühgeborene) an der „early onset“-Infektion. Spezifische Maßnahmen zur Prävention der „late onset“-Infektion sind nicht bekannt. Gruppe B-Streptokokken-assoziierte Erkrankungen sind als solche nicht meldepflichtig. Krankenhaus-Infektionen sollen dem zuständigen Krankenhaushygieniker gemeldet werden.
Trotz intensiver Bemühungen um eine Entwicklung einer Kapsel-Vakzine ist die allgemeine Einführung eines Gruppe B-Streptokokken-Impfstoffes in den nächsten Jahren nicht absehbar.

4.2.3 Streptococcus pneumoniae (Pneumokokken)

Pneumokokkken sind bekapselt und liegen häufig in Diplokokken-Anordnung vor. Sie kolonisieren den oberen Respirationstrakt der Menschen. Davon ausgehend kann es zu endogenen, aber auch zu exogenen Infektionen des oberen und unteren Respirationstraktes kommen. Daneben können die Bakterien eine Arthritis, Peritonitis oder Hornhautinfektion auslösen und sind die häufigsten Erreger bakterieller Meningitiden.

Eigenschaften der Pneumokokken

Taxonomisch werden die Pneumokokken der *S. mitis*-Gruppe der Streptokokken zugeordnet. Unter aeroben Bedingungen wachsen sie auf Schafsblutagar in Kolonien mit einem deutlichen α-Hämolysehof. Bei starker Kapselbildung (insbesondere Kapseltyp 3) bieten die Kolonien einen schleimig-glänzenden Aspekt. Pneumokokken bilden beim Ausbleiben von Nährstoffen ein Autolysin. Am Ende ihrer Wachstumsphase überwiegt die Aktivität des Autolysins die Aktivität der Zellwand-aufbauenden Enzyme. Dies induziert ein Absterben der Zellen. Beim Wachstum auf Agar äußert sich dies durch Bildung einer zentralen Delle in der Kolonie (Abb. 4.8). Im Patientenmaterial führt es nach Entnahme des Materials zu einem schnellen Absterben der Bakterien.
Wie die anderen Vertreter der *S. mitis*-Gruppe besitzen Pneumokokken eine **natürliche Kompetenz,** d.h. die Fähigkeit, fremde DNA aktiv aufzunehmen. Die DNA kann durch Rekombination dem eigenen Genom einverleibt werden. Insofern hat die autolytische Aktivität den Sinn, Pneumokokken-DNA freizusetzen und sie der Population zur Verfügung zu stellen. Damit wird eine schnelle genetische Variabilität und somit eine erhöhte Anpassungsfähigkeit an die Umgebung der Population erreicht. Durch die Eigenschaft der Kompetenz konnte GRIFFITH (1928) Kapselsynthesegene von toten bekapselten auf lebende unbekapselte Pneumokokken übertragen und damit beweisen, daß die Erbinformation zwischen Zellen weitergegeben werden kann.



Pathogenese

Die Polysaccharidkapsel (Abb. 4.9, Farbtafel) ist ein notwendiger **Virulenzfaktor** der Bakterien. Unbekapselte („rauhe") Stämme werden, außer bei Hornhautinfektionen, nicht von infizierten Stellen isoliert. Etwa 10 unter den über 90 Kapseltypen sind mit einer besonderen Virulenz des Kapsel-produzierenden Stammes assoziiert, so daß diese Stämme ca. zwei Drittel der Pneumokokken-Infektionen bei Erwachsenen und ca. 80% der Infektionen bei Kindern auslösen. Die Funktion der Kapsel ist die Inhibition der Phagozytose. Dies geschieht durch Effizienzminderung des alternativen Komplementaktivierungsweges und Maskierung anderer bakterieller Oberflächenantigene.
Das *Pneumolysin* ist ein Toxin, das nach Autolyse der Bakterien freigesetzt wird und durch Insertion und Oligomerisierung zur Porenbildung in eukaryoten Zellmembranen und letztlich zur Lyse von Zielzellen führt. Daneben aktiviert es das Komplementsystem und führt zur Stickoxid-Ausschüttung aus Wirtszellen. Dies führt zur Hemmung der Zilien-Bewegung respiratorischer Epithelzellen. Bei Hornhautinfektionen spielt es die Rolle eines zentralen Virulenzfaktors.

Daneben exprimieren Pneumokokken Oberflächenproteine mit Adhäsinfunktion wie verschiedene Lektine oder PspA, dessen Funktion weiterhin unklar ist. Aufgrund von Deletionsexperimenten weiß man aber, daß PspA für das Angehen einer Infektion unerläßlich ist. Ferner werden nach der Autolyse eine Reihe von Enzymen freigesetzt: eine IgA_1-Protease, die sekretorische Antikörper inaktiviert, eine Neuraminidase, die Schleim verflüssigt und mögliche Bindungsstellen auf Wirtszellen freilegt, sowie eine Hyaluronidase, die Matrixmoleküle degradiert und damit zur Ausbreitung der Pneumokokken beiträgt.

4

Ein Teil davon ist auch gegen Cephalosporine resistent. Die Inzidenz dieser Stämme liegt in Deutschland zur Zeit noch bei < 2% der Isolate. Dies unterstreicht die Notwendigkeit der **Resistenztestung von Pneumokokken-Isolaten** zur Therapieoptimierung. Die Therapie-Empfehlung beim Verdacht auf oder nachgewiesener Infektion durch einen Penicillin-resistenten Pneumokokken-Stamm lautet für den hiesigen Raum Cefotaxim oder Ceftriaxon. Diese β-Laktame sind auch für die Pneumokokken-Meningitis Chemotherapeutika der ersten Wahl. Bei Penicillin-Allergie können Alternativen nur nach Antibiogramm sicher gewählt werden, da Tetrazyklin-, Makrolid-, Clindamycin- und Chloramphenicol-Resistenzen bei Pneumokokken nicht selten sind. Zukünftig bieten auch Tri-fluoridierte Chinolone (z.B. Moxifloxacin) eine Alternative für die Chemotherapie.

Epidemiologie und Bekämpfung

Pneumokokken-Infektionen sind nach dem Infektionsschutzgesetz nicht meldepflichtig.
Da Pneumokokken offenbar physiologischerweise beim Menschen weit verbreitet sind, stellen sich für eine sichere Prophylaxe einige Probleme. Es existiert die Möglichkeit einer aktiven Immunisierung mit einer Vakzine, die die 23 empirisch häufigsten Kapselantigene enthält. Diese wirkt bei Milz-exstirpierten Personen gut und kann für andere Risikopersonen (z.B. ältere Menschen) indiziert sein. Da Kinder < 2 Jahren keine signifikante Immunantwort gegen Polysaccharid-Antigene aufbauen, wird eine proteinhaltige, sog. Konjugat-Vakzine für diese Risikogruppe entwickelt.

4.2.4 Streptokokken der S. mitis- und S. mutans-Gruppen

Diese von Klinikern häufig noch als *Viridans-Streptokokken* bezeichneten Bakterien besiedeln physiologischerweise den Mund- und Nasenraum. Hier haben sie eine probiotische Funktion, weil sie die Zahl pathogener Bakterien durch Verdrängung von den Bindungsstellen an Wirtszellen und durch die Sekretion toxischer Substanzen wie H_2O_2 und Bakteriozinen vermindern.

Unter einer Ernährung mit hohem Zuckergehalt verursacht *Streptococcus mutans* Karies. Streptokokken der *S. mitis*-Gruppe besitzen nur eine geringe Virulenz und sind häufig an Mischinfektionen beteiligt.

Bei vorgeschädigtem Endokard können sich die Streptokokken im Rahmen von Bakteriämien auf den Herzklappen absiedeln und dort eine Endocarditis lenta erzeugen.

Eigenschaften der Erreger

Vor allem die Streptokokken der *S. mutans*-Gruppe (*S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. downei*) zeigen keine Hämolyse bei Wachstum auf Schafsblutagar. Ansonsten gehören die Bakterien dieser Gruppen zu den α-hämolysierenden Streptokokken. Die Speziesdifferenzierung ist am sichersten durch Analyse der rRNA-Gene durchführbar. Da die DNA-Sequenzierung noch wenigen Speziallaboratorien vorbehalten ist, werden zahlreiche Zuckerfermentationstests zur Feststellung der Art benutzt.

Pathogenese

Die Streptokokken der *S. mutans*-Gruppe exprimieren mindestens drei verschiedene Oberflächenproteine, die ihnen die feste Anheftung an die Zahnoberfläche gestatten. Ferner besitzen sie die Fähigkeit, Nahrungszucker in langkettige Exopolysaccharide (Glukane) umzuwandeln. In der aus dieser Substanz zusammengesetzten, die Bakterien umgebenden Schleimhülle sind sie gegen mechanischen und chemischen Streß in der Mundhöhle gut geschützt. Andere Bakterienarten bilden spezifische Rezeptoren für Oberflächenstrukturen der erstbesiedelnden Streptokokken. Der resultierende Belag aus Streptokokken, anderen Bakterien und Schleim wird **Plaque** genannt. Die Streptokokken der *S. mutans*-Gruppe zeichnen sich gegenüber anderen Streptokokken durch ihre ausgeprägte Milchsäurefermentation aus. Diese findet auch noch bei sehr niedrigen Umgebungs-pH-Werten statt, sofern Zuckermoleküle konstant zur Verfügung stehen. Die dadurch anfallende große Laktatmenge löst nachhaltig Ca^{2+}-Ionen aus dem die Bakterien tragenden Zahnschmelz **(Schmelzkaries).** Durch diesen Mechanismus weichen die Bakterien den Schmelz auf und gelangen bis zum Dentin, in dem das Spektrum der Erreger hin zu gram-positiven Stäben und die verantwortlichen Virulenzfaktoren zu Proteasen wechseln **(Dentin-Karies).**

Die Kontrolle und Abwehr der Bakterien durch den Wirt beruht auf der vielfältigen Wirkung des Speichels (Spülung, lytische Faktoren, sekretorisches IgA, Kationen-bindende Proteine).

Während auf der Schleimhaut auch Makrophagen und Lymphozyten zur Kontrolle beitragen, entfallen diese Mechanismen auf der Zahnoberfläche. Nach dem Durchdringen des Zahnschmelzes schreitet daher die kariöse Läsion praktisch ungehindert bis zum Eindringen in die Pulpa voran.
Streptokokken der *S. mitis*- und *S. mutans*-Gruppen werden durch mechanische Manipulationen vom Mund (z.B. Zähneputzen, Zahnextraktion) **in die Blutbahn** geschwemmt. Durch die Ausbildung von Fibronektin-bindenden und Thrombozyten-aggregierenden Oberflächenproteinen besitzen sie die Fähigkeit besonders an vorgeschädigten Endothelien (z.B. Herzklappen nach akutem rheumatischen Fieber) zu adhärieren.
Der Wirt kann gegen diese im Gefäßlumen lokalisierten Bakterien alle Wege der unspezifischen und spezifischen **Abwehr** nutzen. Hinzu

Laboratoriumsdiagnose

Zur Diagnose der Karies bedarf es in aller Regel keiner mikrobiologischen Untersuchungen. *S. mutans* läßt sich auf dem Mitis-Salivarius (MS)-Selektivagar kultivieren und visuell differenzieren.
Für die Diagnose der Endocarditis lenta werden mehrere Blutkulturen angelegt. Wegen der Sauerstoff-Empfindlichkeit einiger der potentiell beteiligten Streptokokken müssen auch immer anaerobe Medien inokuliert bzw. für die spätere Differenzierung mitbenutzt werden. Eine Resistenztestung ist auf Grund der Schwere der Erkrankung und der auch in Deutschland bei bis zu 20% der *S. mitis*- und *S. oralis*- Stämme vorhandenen Penicillin-Resistenz erforderlich. Gegebenenfalls müssen auch die exakten MHK/MBK-Werte zum Ausschluß einer ausgeprägten Aminoglykosid-Resistenz bzw. einer Antibiotika-Toleranz ermittelt werden. Mit „Schachbrett"-Testungen kann die synergistische Wirkung verschiedener Antibiotika-Klassen überprüft werden. Serologische Untersuchungen werden nicht benötigt.

Eine **Chemoprophylaxe der Endocarditis lenta** mit Oral-Penicillinen ist bei Vorschädigung der Herzklappen indiziert.

4.2.5 Streptokokken der S. anginosus- und S. bovis-Gruppen

Streptokokken der *S. anginosus*-Gruppe *(S. anginosus*, *S. intermedius*, *S. constellatus)* können alle Hämolyseformen auf Schafsblutagar zeigen. Sie kommen physiologischerweise im oberen Respirations- und im Darmtrakt vor. In der Regel werden sie aus Mischinfektionen mit Abszeßbildung aus Lunge, Abdomen und Hirn, aber auch aus dem Urogenitaltrakt und dem Endodontium isoliert.

S. bovis als humanpathogen relevanter Vertreter der gleichnamigen Gruppe wächst nicht-hämolysierend auf Schafsblutagar. Er findet sich physiologischerweise im Darmtrakt. Eine Bakteriämie oder Sepsis mit dieser Spezies kann mit dem Vorliegen von Kolon-Karzinomen assoziiert sein.

Penicilline eignen sich zur Therapie der durch diese Bakterien ausgelösten Infektionen.

4.2.6. Enterokokken

Enterokokken sind in der Natur weit verbreitete Bakterien. Sie besiedeln das Darmlumen von Wirbellosen und Wirbeltieren und finden sich auf Pflanzen, im Wasser sowie im Erdboden. Die 17 Spezies haben jeweils eine Assoziation zu spezifischen Wirten. Beim Menschen finden sich vor allem *E. faecalis* und *E. faecium* als Kommensalen in Darm, Mundhöhle, Urethra und Vagina. Enterokokken beherbergen häufig Resistenzplasmide, die durch konjugativen Transfer auf Bakterien der eigenen und anderer Spezies übertragen werden können. Typische durch Enterokokken ausgelöste Infektionen betreffen die Harnwege, Operationswunden, Endokard und Peritoneum.

Eigenschaften der Enterokokken

Die Enterokokken bilden eine eigene Gattung, tig im Fluß. Auf Schafsblutagar wachsen die Enterokokken mit Vergrünung oder nicht-hämolysierend. Typischerweise sind sie im LAP- und PYR-Test (s. Tab. 4.3) positiv. Den serologischen Typ D ihres Gruppenantigens teilen sie mit anderen Streptokokkenarten, so daß diese Reaktion nicht zur Differenzierung von Enterokokken ausreicht.

Pathogenese

In Abhängigkeit von ihrer Umgebung exprimieren die Enterokokken **Virulenzfaktoren** wie Adhäsine für Matrixproteine und ein Zytolysin. Die Vorrangstellung von *E. faecalis* unter den die Menschen kolonisierenden und infizierenden Enterokokken erklärt sich womöglich aus der Fähigkeit zur Bildung der Aggregationssubstanz. Dieses Adhäsin bindet an β_1-Integrine eukaryoter Zellen und wird offenbar besonders in Gegenwart von Serumpeptiden exprimiert. Damit hat das Adhäsin wahrscheinlich eine herausragende Bedeutung im Rahmen der Pathogenese der Enterokokken-Endokarditis.

Die Aggregationssubstanz wird auf einer Familie von Plasmiden kodiert, auf denen sich auch die Gene für Antibiotikaresistenzen und das Zytolysin befinden können. Ein einzelnes dieser Plasmide wird auf einen Pheromon-Stimulus hin durch Konjugation von Plasmid-tragenden auf Plasmid–freie Enterokokken übertragen. Damit sind die Plasmide in vielen *E. faecalis*- und einigen *E. faecium*-Stämmen verbreitet. Durch einen besonders kontrollierten Replikationsmechanismus sind die Plasmide in ihren Wirten sehr stabil, auch ohne daß z.B. durch Antibiotikatherapie ein Selektionsdruck in Richtung Plasmid-tragender *E. faecalis*-Stämme bestände. Deswegen sind die Plasmid-tragenden Enterokokken ein stabiles Reservoir für die auf diesen Plasmiden kodierten Antibiotika-Resistenzgene.

Klinik

Enterokokken verursachen Harnwegsinfektionen, insbesondere bei hospitalisierten Patienten. Eine schwerwiegende und therapeutisch häufig problematische Infektion ist die Enterokokken-Endokarditis.

4

Systematik am besten geeigneten Gene werden bisherige Gattungs- und Spezieszuordnungen überprüft. Dabei zeichnet sich ab, daß sich die Gattung *Peptostreptococcus* in mehrere neue Gattungen unterteilen läßt. Aufgrund der Sequenz ihrer rRNA-Gene sind sie mit den Clostridien verwandt. Die Bakterien der drei Gattungen sind obligat anaerobe, nicht-sporenbildende Kokken. Sie wachsen als Diplokokken oder in kurzen Ketten *(Peptostreptococcus, Atopobium)* bzw. in Haufen *(Peptococcus)*. Einzelne Spezies zeigen dabei ein Nebeneinander unterschiedlich großer Kokken. Ihre Energie beziehen sie aus dem Abbau von Peptiden und Aminosäuren. Sie bilden daraus Essigsäure als wesentliches Abbauprodukt.
Die Bakterien der drei Gattungen lassen sich auf mit Natriumoleat, Hämin und Vitamin K angereichertem Blutagar oder anderen typischen Anaerobier-Medien gut kultivieren. Da sie in der Regel aus Mischinfektionen angezüchtet werden müssen und relativ langsam wachsen, sollte das Medium Selektivzusätze zur Unterdrückung der aeroben und gram-negativen anaeroben Begleitflora enthalten. Auf festen Medien bilden die Bakterien nach 48 bis 72 Stunden Bebrütung kleine, konvexe, glattrandige, helle Kolonien. Ähnlich der Größenvarianz der einzelnen Kokken können auch die Kolonien einer Spezies in einer Passage unterschiedliche Durchmesser aufweisen. In Flüssigmedien wachsen sie typischerweise in Flocken oder Säulen.

Pathogenese

Die GPAK besiedeln physiologischerweise den Mund, den oberen Respirations- und Darmtrakt, die Haut und den Genito-Urethral-Trakt der Frauen.

Peptostreptococcus micros stellt bis zu 15% der kultivierbaren oralen bakteriellen Flora und findet sich besonders in der Plaque und im gingivalen Sulcus. Die Zusammensetzung der Darmflora hängt vom Alter und der Nahrung eines Menschen ab, trotzdem gehören *Peptostreptococcus*-Spezies immer zu den häufigsten Arten. In der Vagina wechselt die bakterielle Flora in Abhängigkeit vom Menstruationszyklus und einer Schwangerschaft. *Peptostreptococus magnus, P. asaccharolyticus* und *P. prevotii* werden bei 40% aller Frauen und 90% der Schwangeren nachgewiesen. *P. magnus* findet sich zudem regelhaft in der Hautflora.
Werden in Infektionsherden anaerobe Bakterien nachgewiesen, so gehören 25 bis 30% dieser Isolate zu den GPAK. Zur Auslösung einer Infektion benötigen die GPAK in aller Regel die synergistische Aktivität anderer Bakterien mit größerer Virulenz. Häufig ist dies *Staphylococcus aureus*, wobei in Modellinfektionen schon der Kulturüberstand dieser Spezies zur Unterstützung einer Peptostreptokokkeninfektion ausreicht. Die GPAK bilden selber Oberflächenproteine, die Serum- und Matrix-Proteine binden können. Daneben werden Hämolysine und eine Reihe von Exoenzymen exprimiert. *P. micros* schließlich kann ohne Schaden für die eigene Population große Mengen an H_2S synthetisieren. Dieses wirkt zytotoxisch auf eukaryote Zellen.

Klinik

P. micros ist vor allem an oralen Infektionen beteiligt. Zusammen mit Streptokokken der *S. anginosus*-Gruppe und *Prevotella* verursacht die Spezies endodontal abszedierende Infekte, zusammen mit *Porphyromonas*, *Prevotella* und *Bacteroides forsythus* kann sie die Parodontitis unterhalten. Ferner spielt sie bei der enoralen Implantat-Lockerung, chronischen Sinusitiden und Peritonsillar-Abszessen eine Rolle.
In intra-abdominellen Abszessen findet sich von den GPAK am häufigsten *Peptostreptococcus anaerobius*, genauso wie bei der bakteriellen Vaginose. Diese wiederum zeigt empirisch eine Assoziation zu Frühgeburtlichkeit, niedrigem Geburtsgewicht und Amnion-Infektions-Syndrom. *P. magnus* schließlich wird besonders in Hautinfektionen wie Talgdrüsenabszessen, Fuß-Ulzera bei Diabetikern und chirurgischen Wundinfektionen nachgewiesen. Seltener wird diese Spezies auch aus intrazerebralen Abszessen und osteomyelitischen Foci isoliert.

Laboratoriumsdiagnose

Da die GPAK obligat anaerobe Bakterien sind, muß der Luftkontakt des Untersuchungsmaterials und auch der anschließenden Kulturen minimiert werden. Deswegen sind **Punktate** und **Bioptate** Abstrichen in der Nachweissensitivität überlegen. Weiterhin sind die Bakterien gegenüber Austrocknung besonders empfindlich. Daher muß das Material sofort in ein Transportme-

dium gegeben werden, wobei sich das Port-a-Cul®-Medium als besonders geeignet erwiesen hat. Im **Transportmedium** soll das Material bei Raumtemperatur so schnell wie möglich ins Untersuchungslabor transportiert werden. Die anaerobe Anzucht der Bakterien auf geeigneten Kulturmedien bereitet wenig Probleme, ist aber wegen der geringen Teilungsrate der Bakterien langwierig. Aufgrund der zur Zeit teilweise unsicheren Nomenklatur ist die biochemische Differenzierung unbefriedigend. Von Routinelaboratorien können die häufigsten humanpathogenen *Peptostreptococcus*-Arten relativ sicher erkannt werden. Jede weitergehende Differenzierung bleibt Speziallaboratorien vorbehalten. Im Bereich der Parodontitis-Diagnostik befinden sich Nachweissysteme u.a. für *P. micros* mittels DNA-Hybridisierung unter Verzicht auf die Anzüchtung der Bakterien im Stadium der Markteinführung. Serologische Untersuchungsmethoden existieren nicht.

Therapie

Die Therapie beruht, soweit erforderlich, auf einem chirurgischen Eingriff zur Beseitigung des Abszeßherdes und auf der Gabe von Antibiotika. In der Regel sind dies β-Laktame, wobei Penicillin G, Cefoxitin und die Carbapeneme die beste Wirksamkeit zeigen. Allerdings können gegen diese wie auch gegen typische Anaerobier wirksame Antibiotika wie Metronidazol oder Clindamycin einige GPAK-Stämme resistent sein. Makrolide sind meist unwirksam. Alternativen für die Therapie sind die Gabe von Glykopeptiden oder Tri-fluoridierten Chinolonen (z.B. Moxifloxacin).

Epidemiologie und Bekämpfung

Infektionen mit GPAK sind in aller Regel endogene Infektionen, so daß kaum Präventionsmöglichkeiten bestehen. Die Erkrankungen sind nicht meldepflichtig. Eine Vakzine wird nicht entwickelt. Es stellt sich die Frage, ob eine solche Vakzine, weil gegen einen Teil der physiologischen Flora gerichtet, nicht sogar schädlich sein könnte.

Literatur

MOELLERING, R.C.: Vancomycin-resistant enterococci. Clin. Infect. Dis. 26, 1196–1199 (1998).

MURDOCH, W.: Gram-positive anaerobic cocci. Clin. Microbiol. Rev. 11, 81–120 (1998).

PODBIELSKI, A., E. ROZDZINSKI, H. WIEDECK und R. LÜTTICKEN: Gruppe-A-Streptokokken und die nekrotisierende Fasziitis. Dt. Ärztebl. 95, A-414–420 (1998).

SCHUCHAT, A.: Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. Clin. Microbiol. Rev. 11, 497–513 (1998).

TUOMANEN, E.I., and H.R. MASURE: Molecular and cellular biology of pneumococcal infection. Microb. Drug Resist. 3, 297–308 (1997).

4.3 Die Familie der Neisseriaceae

MATTHIAS FROSCH

Neben den Genera *Acinetobacter, Branhamella, Kingella* und *Moraxella* umfaßt die Familie der *Neisseriaceae* auch die Gattung *Neisseria*, die unter den genannten Gattungen humanmedizinisch am bedeutsamsten ist. Neisserien sind unbeweglich und stellen sich als gram-negative Diplokokken dar. *Neisseria meningitidis* (Meningokokken), der wichtigste Erreger einer eitrigen Meningitis und Sepsis, und *Neisseria gonorrhoeae* (Gonokokken), der Erreger der Geschlechtskrankheit Gonorrhoe, sind ausschließlich beim Menschen anzutreffende pathogene Vertreter der Neisserien. Daneben existieren zahlreiche apathogene Arten (z.B. *N. lactamica, N. cinerea, N. sicca, N. mucosa, N. subflava, N. flavescens, N. elongata)*, die zur normalen Standortflora der Schleimhäute des Nasopharynx und des Genitaltraktes des Menschen zählen. Diese wurden in sehr seltenen Fällen auch aus anderen Körperstellen als Ursache von Infektionen isoliert und mit Sepsis, Endokarditis, Meningitis, Osteomyelitis, Arthritis, Konjunktivitis, Endophtalmitis und Infektionen des Respirationstrakts ursächlich in Zusammenhang gebracht.

4.3.1 Die Gattung Neisseria

Die **Gonorrhoe** ist eine der ältesten bekannten Krankheiten. Ihre Beschreibung findet sich schon im alten Testament, in alten chinesischen Schriften und mesopotamischen Tontafeln. Die Bezeichnung Gonorrhoe geht auf GALEN (130–200 n. Chr.) zurück, der den eitrigen Ausfluß aus der Harnröhre des Mannes als Sa-

der Entwicklung submuköser Mikroabszesse und der Exudation von Eiter (Abb. 4.11).

Andere Membranproteine

Neben den Opa-Proteinen wurden noch mehrere andere Membranproteine identifiziert. Für die Pathogenese der Gonorrhoe von besonderer Bedeutung sind dabei eine Reihe von Membranproteinen, die unter Eisenmangel-Bedingungen exprimiert werden und selektiv humanes Transferrin und humanes Lactoferrin binden und zur Deckung des Eisenbedarfs der Bakterienzelle essentiell sind.

Enzym wurde deshalb eine mögliche Schutzfunktion gegenüber sekretorischem IgA auf den Schleimhäuten zugewiesen.

Klinik der Gonorrhoe

Die Gonorrhoe wird durch Sexualkontakte übertragen und manifestiert sich weitgehend als lokale, auf die Genitalorgane beschränkte Infektionskrankheit. Beim **Mann** tritt sie als **akute Urethritis** auf, die zunächst nur den vorderen Teil der Urethra betrifft. Nach einer **Inkubationszeit** von durchschnittlich 2–5 Tagen nach



tis mit Pustelbildung und hämorrhagisch-nekrotischen Effloreszenzen.

Anorektale Infektionen treten bei beiden Geschlechtern auf und manifestieren sich als akute Proktitis, analer Pruritus, eitriger Ausfluß und anale Blutungen. In der Mehrzahl der Fälle verläuft die anorektale Gonorrhoe jedoch asymptomatisch. Betroffen sind vor allem homosexuelle Männer. Bei Frauen kann die Infektion durch analen Geschlechtsverkehr oder durch vaginalrektale Auto-Inokulation erfolgen. Eine *pharyngeale Gonorrhoe* wird nach oralem Geschlechtsverkehr unter dem klinischen Bild einer eitrigen Pharyngitis beobachtet, verläuft aber in den meisten Fällen symptomlos.

In der Schwangerschaft führt eine Gonorrhoe zu einem erhöhten Risiko spontaner Aborte, vorzeitigem Einsetzen der Wehen und vorzeitigem Blasensprung.

Unter der Geburt ist eine Übertragung von Gonokokken auf das Kind möglich. Die wichtigste Manifestationsform ist eine eitrige Konjunktivitis des Neugeborenen, die als *Blennorrhoea gonorrhoica neonatorum* bekannt ist und in früheren Zeiten als wichtigste Ursache der Erblindung galt. Mit der auch heute noch praktizierten Prophylaxe durch den Leipziger Gynäkologen CREDÉ im Jahr 1884, der die Einträufelung einer 1%igen Silbernitratlösung in den Bindehautsack des Neugeborenen als effektive Schutzmaßnahme einführte, ist die gonorrhoische Neugeborenen-Konjunktivitis heute nahezu vollkommen verschwunden.

Therapie

Während noch in den 50er und 60er Jahren alle Gonokokken-Stämme gegenüber Penicillin G empfindlich waren, ist heute verbreitet mit Gonokokken-Isolaten zu rechnen, die gegenüber Penicillin, aber auch gegenüber Streptomycin, Tetrazyklin, Erythromycin, Rifampicin und Chloramphenicol resistent sind. Die Penicillin-Resistenz beruht auf Mutationen der Penicillinbindenden Proteine und einer Plasmid-vermittelten β-Laktamase-Produktion. Für die initiale Therapie werden Cephalosporine der 3. Generation und Gyrasehemmer empfohlen. Aber auch hier sind bereits die ersten resistenten Isolate beschrieben, so daß der kulturelle Erregernachweis mit anschließender Resistenztestung bei jedem Fall einer Gonorrhoe obligat ist.

Epidemiologie und Prophylaxe

Bei der Bekämpfung der Gonorrhoe muß beachtet werden, daß es kein tierisches Reservoir gibt und die Verbreitung ausschließlich von menschlichen Verhaltensweisen abhängt. Die Gonorrhoe wird, wie auch andere Geschlechtskrankheiten, vornehmlich durch Individuen übertragen und verbreitet, deren Infektion asymptomatisch verläuft, oder welche die Symptome ignorieren und auf Sexualkontakte nicht verzichten. Eine wichtige Rolle bei der Übertragung der Erkrankung spielen Prostituierte, die nach einigen Schätzungen für 80–90% der Infektionen bei Männern verantwortlich sind. In das Konzept zur Verhütung der Weiterverbreitung von Geschlechtskrankheiten müssen auch die Ehe- und Sexualpartner von Erkrankten einbezogen werden, deren Untersuchung und Therapie (gegebenenfalls auch ohne Erregernachweis!) erforderlich ist.

Nach dem „Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen“ (Infektionsschutzgesetz) ist die Gonorrhoe nicht mehr meldepflichtig.

Neben Infektionen mit *Chlamydia trachomatis* ist die Gonorrhoe weltweit die häufigste Geschlechtskrankheit. Die Zahl der Infizierten in Deutschland ist hoch; man rechnet jährlich mit 40 000 Neuinfektionen. Die Inzidenz zeigt deutliche altersabhängige Unterschiede. Während die durchschnittliche Inzidenz auf 4,6 Fälle pro 100 000 Einwohner geschätzt wird, beläuft sich die Inzidenz bei jungen und sexuell aktiven Menschen auf etwa 16 pro 100 000. Parallel zu der Entwicklung in anderen europäischen Ländern ist seit der ersten Hälfte der 80er Jahre ein rückläufiger Trend zu beobachten, nachdem die Inzidenz in den späten 60er und den 70er Jahren sprunghaft angestiegen war, was mit der Verbreitung oraler Kontrazeptiva und steigender Promiskuität in Verbindung gebracht wurde. Mit dem Auftreten von HIV und dem Propagieren von Kondomen als Infektionsprophylaxe ist auch die Zahl der Gonokokken-Infektionen spürbar zurückgegangen.

Trotz weltweiter intensiver Bemühungen ist die Verfügbarkeit eines Impfstoffes gegen Gonokokken nicht absehbar. Die antigene Variabilität der wichtigsten Oberflächenmoleküle, wie Pili- und Opa-Proteinen, ist der wichtigste Grund für die bisherigen Fehlschläge in der Impfstoffentwicklung.

Virulenzfaktoren von Meningokokken und Pathogenese

Die bei Gonokokken beschriebenen Virulenzfaktoren sind auch bei Meningokokken anzutreffen. Sie determinieren die Fähigkeit der Erreger zur Kolonisation der Mukosa des Nasopharynx und tragen auch zur Überwindung der Mukosa-Barriere und systemischen Ausbreitung bei. Zusätzlich zu den genannten Virulenzfaktoren exprimieren Meningokokken eine Kapsel, die aus sauren Polysacchariden aufgebaut ist. Die antigenetischen Unterschiede der Kapseln bilden die Grundlage für die Einteilung von Meningokokken in Serogruppen. Zur Zeit sind 13 Serogruppen (A, B, C, D, E, H, I, K, L, W135, X, Y und Z) bekannt, die durch Agglutination mit Kapsel-spezifischen Antiseren bestimmt werden können. Von den 13 Serogruppen sind aber nur fünf (A, B, C, W135 und Y) mit Meningokokken-Infektionen assoziiert. Mit Ausnahme von Meningokokken der Serogruppe A besteht ihr Kapselpolysaccharid zum Teil oder ausschließlich aus N-Acetyl-Neuraminsäure. Dies ist von Bedeutung, da diese Struktur wesentlich die lytische Aktivität des Komplements inhibieren kann und somit den Erregern während der systemischen Ausbreitung in Blut und Liquor vor den bakteriziden Eigenschaften des Serums und auch der Komplement-vermittelten Opsonisierung und Phagozytose schützt.

Das Kapselpolysaccharid von Meningokokken der Serogruppe B besteht aus homopolymerer α-2,8-glykosidisch verknüpfter N-Acetyl-Neuraminsäure. Eine identische Struktur ist auch in neuralem Gewebe, assoziiert mit einem Zelladhäsionsmolekül mit der Bezeichnung N-CAM, zu finden. Durch dieses antigene Mimikry unterlaufen Meningokokken der Serogruppe B auch die spezifische humorale Immunantwort (Immuntoleranz). Es erklärt, daß während einer Infektion keine Antikörper gegen diese Kapselstruktur gebildet werden, und daß kein Impfstoff gegen Meningokokken der Gruppe B zur Verfügung steht.

Die systemische Meningokokken-Infektion präsentiert sich primär als Sepsis, die mit sekundären Infektionen und Schädigungen der Meningen, der Haut und einiger weiterer Organe auftritt. Die für diese Organschädigungen verantwortlichen pathophysiologischen Veränderungen sind auf das LPS mit seiner ausgeprägten endotoxischen Wirkung zurückzuführen. Die Menge an zirkulierendem Endotoxin korreliert direkt mit dem Schweregrad und der Prognose der Erkrankung. Als wichtigste Quelle für die endotoxische Aktivität werden die Membran-„blebs“ angesehen. Die auf das Endotoxin zurückzuführenden pathophysiologischen Veränderungen und Mechanismen der Organschädigung werden detailliert im Kapitel 11.6 („Infektionen des ZNS“) besprochen.

Klinik der Meningokokken-Infektion

Die klinische Manifestation der systemischen Meningokokken-Infektion ist sehr variabel und reicht von der transienten **Bakteriämie,** über eine **Sepsis** mit und ohne **Meningitis** bis hin zur fulminant und innerhalb weniger Stunden letal verlaufenden Erkrankung. Mehr als die Hälfte der Patienten berichtet über prodromale Symptome, die bereits 1 Woche vor Beginn der akuten Erkrankung als Infektionen der oberen Atemwege einsetzen. Dabei ist aber unklar, ob diese Infektzeichen bereits auf die Invasion von Meningokokken mit einer anschließenden lokalen Entzündung oder auf vorangehende, möglicherweise die systemische Ausbreitung von Meningokokken prädisponierende Virusinfekte zurückzuführen sind. Die systemische Meningokokken-Erkrankung setzt typischerweise sehr schnell ein und beginnt mit hohem Fieber und Schüttelfrost, Erbrechen und Hypotension. Hämorrhagische Hautläsionen, die von 1–2 mm großen petechialen Blutungen, bevorzugt am Körperstamm und den unteren Extremitäten, bis hin zu großflächigen, ecchymatösen Hautblutungen reichen, sind ein klassisches Merkmal der systemischen Meningokokken-Infektion. „Berstende“ Kopfschmerzen, Nackensteifheit mit positivem KERNIGschen und BRUDZINSKIschen Zeichen und Bewußtseinseintrübungen weisen auf die ZNS-Beteiligung und Meningitis hin. Die Mortalität ist trotz frühzeitigem therapeutischen Einsatz von Antibiotika hoch und beträgt ca. 10%. Bei bis zu 30% der Überlebenden bleiben neurologische Defekte zurück. Bei der unter dem Bild des **WATERHOUSE-FRIDERICHSEN-Syndroms** fulminant verlaufenden Meningokokken-Infektion steht das septische Krankheitsbild im Vordergrund, das mit massiven Hämorrhagien und Nekrosen der Haut und der inneren Organe (bevorzugt der Nebennierenrinde!) innerhalb weniger Stunden nach Auftreten der ersten Symptome tödlich verläuft.

Meningokokken sind auch Ursache von Infektionen des Respirationstrakts. Pneumonien können bei systemischen Meningokokken-Infektionen auftreten oder sich als isolierte, primäre In-

fektion manifestieren. Weitere Symptome sind Konjunktivitis, Rhinitis, Pharyngitis und Otitis media.

Therapie

Penicillin G gilt als Mittel der Wahl. Resistenzen sind in Deutschland noch nicht beschrieben, wurden aber in anderen europäischen Ländern vereinzelt beobachtet. Alternativ werden Cephalosporine der 3. Generation verwendet.

Epidemiologie und Prävention

Die jährliche Inzidenz der systemischen Meningokokken-Infektion in Deutschland beträgt 1 pro 100 000 Einwohner. Demgegenüber steht eine hohe Rate an Meningokokken-Trägern im Nasopharynx von 10%.

Neben der Variabilität von Virulenzeigenschaften der Meningokokken-Isolate ist die Immunitätslage des Wirts von entscheidender Bedeutung für den Ausbruch der Infektion. Die Immunität entwickelt sich durch die nasopharyngeale Kolonisation mit Meningokokken oder apathogenen Neisserien, wie *N. lactamica*, die kreuzreagierende Antigene tragen. Neugeborene sind durch maternale Antikörper gegen Meningokokken- Infektionen relativ geschützt, während die Altersgruppe zwischen 6 Monaten und 4 Jahren aufgrund der noch fehlenden eigenen Antikörperantwort ein hohes Infektionsrisiko besitzt. In dieser Altersgruppe ist die Inzidenz mit ca. 20–40/100 000 am höchsten. Eine relative Häufung findet sich bei Jugendlichen im Alter von 15–19 Jahren insbesondere in epidemischen Situationen. Verantwortlich für solche Ausbrüche sind oft neue antigenetische Meningokokken-Varianten, gegen die noch keine Immunität vorhanden ist. Zugleich nimmt in dieser Altersgruppe – wahrscheinlich durch veränderte Sozialkontakte – die Rate der Kolonisation mit Meningokokken sehr stark zu.

In Europa und Nordamerika tritt die systemische Meningokokken-Infektion meist nur sporadisch auf. Verantwortlich sind hierfür Meningokokken der Serogruppe B in ca. 70% und der Serogruppe C in 25%. Die Erkrankung kommt gehäuft in den Wintermonaten vor. In einigen

wird eine Chemoprophylaxe mit Rifampicin oder Ciprofloxacin empfohlen. Bei Ausbrüchen und Epidemien, die durch Meningokokken der Serogruppen A und C verursacht werden, steht ein Impfstoff, der aus den gereinigten Kapselpolysacchariden besteht, zur Verfügung. Er hinterläßt aber keine lang anhaltende Immunität und ist bei Kindern unter 2 Jahren unwirksam.

Laboratoriumsdiagnostik von Neisserien-Infektionen

Für die Diagnostik von Bedeutung ist die Empfindlichkeit von Neisserien gegenüber Kälte und Austrocknung. Sie sind durch eine ausgeprägte autolytische Aktivität gekennzeichnet, die durch eigene Enzyme vermittelt wird. Zur diagnostischen Abklärung einer Gonorrhoe sollten beim Mann Urethralexsudat, bei der Frau Cervixabstriche (aber keine Vaginalabstriche!) gewonnen werden. Bei entsprechendem anamnestischen Hinweis ist auch die Untersuchung von Anal- und Pharyngealabstrichen erforderlich. Ein aus dem Urethralexsudat des Mannes angefertigtes Methylenblau- (als Suchpräparat!) und Gram-Präparat mit den in großer Zahl in den Granulozyten liegenden Gonokokken hat eine hohe diagnostische Sensitivität (>90%). Die Sensitivität des mikroskopischen Präparates von Untersuchungsmaterialien der Frau ist dagegen wegen oftmals geringer Keimzahlen gering; die Spezifität wird zudem durch die vorhandene Standortflora des Genitaltrakts stark eingeschränkt. Für den Transport ins Laboratorium zum kulturellen Nachweis stehen Transportmedien zur Verfügung, welche die Austrocknung der Erreger verhindern. Sollte ein unmittelbarer Transport nicht möglich sein, empfiehlt sich die Vorbebrütung des inokulierten Transportmediums bei 37 °C. Für die weitere Diagnostik werden Urethral-, Cervical- und Rachenabstriche auf Selektivnährböden beimpft, um das Wachstum der physiologischen Standortflora zu unterdrücken. Solche Selektivnährbö-

4

Wachstumsbedingungen (z.B. Peptonwasser, 37 °C) liegt die Generationszeit vieler Enterobakterien bei ca. 30 Minuten, d.h., sie gehören zu den schnell wachsenden Bakterien (innerhalb von 10 Stunden können 1 Million Bakterien aus einer Zelle entstehen!).
Alle Arten der *Enterobacteriaceae* können Glukose unter Säurebildung und häufig auch Gasbildung fermentieren. Die Enterobakterien sind befähigt, diverse Zucker, Aminosäuren und

Enterobakterien können in ihrer Zellhülle zwei Arten von Proteinfortsätzen verankern: *Fimbrien (Pili)* und *Flagellen (Geißeln)*. **Fimbrien** sind in der äußeren Membran verankert (50–100/Zelle) und stellen sich elektronenoptisch als 2–8 nm dicke und bis zu 3 µm lange „Stachel" dar, die aus helikal angeordneten Fimbrinbausteinen entstehen. An der Spitze der Fimbrien befindet sich ein Protein mit spezifischer Bindungsfähigkeit für bestimmte Zuckerkompo-

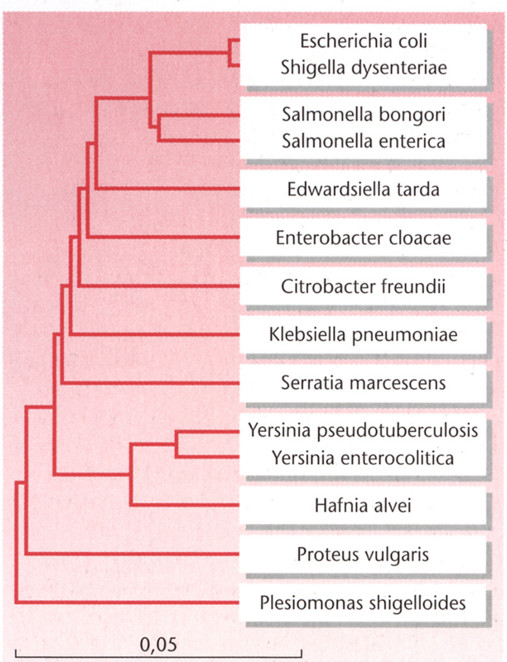
teriaceae zugeordnet, dagegen steht die offizielle Zuordnung der Gattung *Plesiomonas* zur Familie der *Enterobacteriaceae* noch aus. In Abb. 4.12 ist das Dendrogramm, bestimmt aus Sequenzdaten der 16S rDNA der wichtigsten *Enterobacteriaceae*-Arten, dargestellt. Es fällt auf, daß die 16S rDNA-Verwandtschaft zwischen *Escherichia coli* und *Shigella dysenteriae* eine Aufspaltung in zwei Arten nicht rechtfertigt. Bemerkenswert ist auch, daß die Gattung *Salmonella* nur zwei Arten – *S. enterica* und *Salmonella bongori* – umfaßt. Aus dem Vergleich der phylogenetischen Distanz der Gattungen/Arten lassen sich Gruppen von Gattungen zusammenfassen (Abb. 4.12):

- *Escherichia* bis *Serratia*
- *Edwardsiella*
- *Yersinia*/*Hafnia*
- *Proteus*
- *Plesiomonas*.

Der Guanin + Cytosin (G+C)-Gehalt des Genoms der meisten Arten der *Enterobacteriaceae* beträgt

neue Lebensbedingungen anpassen (Aufnahme von Antibiotikaresistenzgenen, Biosynthesegenen, Virulenzgenen). Für die Infektiologie spielt diese Art der genetischen Variabilität eine große Rolle bei der Antibiotikaresistenzentwicklung und der Konversion von nicht pathogenen zu pathogenen Varianten. Durch Aufnahme von Toxingen-tragenden Phagen und Plasmiden sowie von mobilen, komplexen Pathogenitätsdeterminanten, die als *Pa*thogenitäts*i*nseln (PAI, 20–200 Kilobasen, Kb) bezeichnet werden, können neue Erreger entstehen und bekannte Erreger sich in ihrer Virulenz verändern.

Wie in Tab. 4.5 dargestellt, können die *Enterobacteriaceae*-Arten hinsichtlich ihrer medizinischen Bedeutung bzw. ihrer Pathogenität in Gruppen unterteilt werden. Eine Gruppe bilden die **obligat pathogenen Arten** wie *Salmonella enterica* (Subspezies *enterica*), Shigellen und



Tab. 4.5 Medizinisch bedeutsame Erregerarten der Familie *Enterobacteriaceae* mit zugeordneten Erkrankungen

Pathogene Erreger	Erkrankung
Salmonella enterica	
Serovar Typhi	Typhus
Serovar Paratyphi A-C	Paratyphus
Serovar Enteritidis	Enteritis/Salmonellose
Serovar Typhimurium	
Shigella dysenteriae	Ruhr
S. flexneri	Dysenterie
Plesiomonas shigelloides	Ruhrartiger Durchfall
Yersinia enterocolitica Serovare O3, O9, O5,27	Gastroenteritis, mesenteriale Lymphadenitis
Y. pseudotuberculosis Serovare I-VIII	
Y. pestis	Pest
Escherichia coli	
Pathovar ETEC, *enterotoxische* E. *coli*	Reisediarrhoe
Pathovar EPEC, *enteropathogene* E. *coli*	Säuglingsenteritis/Dyspepsie
Pathovar EAEC, *enteroaggregative* E. *coli*	Persistierende Enteritis
Pathovar EHEC, *enterohämorrhagische* E. *coli*	Hämorrhagische Colitis
Pathovar EIEC, *enteroinvasive* E. *coli*	ruhrartige Enterocolitis/Dysenterie
Fakultativ pathogene Erreger	
Escherichia coli	
Pathovar UPEC, *uropathogene* E. *coli*	Harnwegsinfektion
Pathovar SEPEC, *Sepsis* E. *coli*	Sepsis
Klebsiella pneumoniae	„Friedländer Pneumonie"
Citrobacter freundii	Nosokomiale Infektionen: Harnwege, Atemwege, Wunden, Sepsis, Darminfektionen (selten)
Hafnia alvei	
Enterobacter cloacae	
Serratia marcescens	
Edwardsiella tarda	
Morganella morganii	
Proteus mirabilis	
Providencia rettgeri	

brand veröffentlichte, folgten wenige Jahre später die Entdeckungen der Seuchenerreger aus der Familie der *Enterobacteriaceae* (Tab. 4.6). THEODOR ESCHERICH führte mikrobiologische Stuhluntersuchungen durch. Das von ihm am häufigsten aus Stuhlproben aerob angezüchtete gram-negative Stäbchenbakterium nannte er „Bacterium coli commune". Diese Bezeichnung wurde 1919 in *Escherichia coli* umgewandelt. Heute ist *E. coli* zum paradigmatischen Mikroorganismus für die Molekularbiologie, Gentechnologie und Infektionsbiologie geworden.

Zur erfolgreichen Geschichte der Medizinischen Mikrobiologie der *Enterobacteriaceae* gehören auch die bis heute verwendete Färbetechnik von Mikroorganismen nach CHRISTIAN GRAM (1884), die eine Unterscheidung zwischen gram-positiven und gram-negativen Bakterien ermöglicht, der Nachweis von agglutinierenden Antikörpern gegen den Erreger im Serum von Typhuspatienten durch FERNAND WIDAL 1896 und die Serotypisierung der Salmonellen durch KAUFFMANN und White (KAUFFMANN-WHITE-Schema, 1934).

Isolierung, Kultivierung und Differenzierung von *Enterobacteriaceae*

Die Auswahl von Untersuchungsmaterial für mikrobiologische Untersuchungen bei Infektionen mit *Enterobacteriaceae* hängt von dem Erkrankungstyp ab. Bei gastrointestinalen Erkrankungen werden in der Regel Stuhlproben (ca. 1 g/1 ml) und ggf. Rektalabstriche untersucht. Bei langdauernden Transporten sind spezifische Transportmedien wie CARY-BLAIR-Medium oder gepufferte Glycerin-Kochsalzlösung geeignet. Der Transport sollte gekühlt erfolgen, um ein Überwachsen mit Darmflora zu verhindern. Bei Verdacht auf Ruhr/Dysenterie steigt der Erfolg der Anzüchtung von Shigellen mit der Schnelligkeit des Stuhlproben-Transports und der Verarbeitung. Bei typhösem Krankheitsbild können die Typhus-/Paratyphus-Erreger zuerst aus dem Blut (Blutkultur) und erst eine Woche nach Krankheitsbeginn aus Stuhlproben angezüchtet werden. Bei extraintestinalen Infektionen mit Verdacht auf fakultativ pathogene *Enterobacteriaceae* werden entsprechend der Erkrankung Urin, Wundabstriche, Sputum, Punktate, Exsudate, Blut, Gewebe u.a. untersucht.

Stuhluntersuchungen auf pathogene Bakterien erfordern aufgrund der hohen Konzentration von kommensalischer Darmflora (10^{11} bis 10^{12} Bakterien/g) selektive Anzuchtmethoden.

Hierzu stehen unterschiedliche Nährmedien mit selektiven Hemmstoffen für nicht pathogene Flora und Indikatoren für potentiell pathogene Bakterien zur Verfügung. Als Hemmstoffe werden Gallensäuren, Farbstoffe (z.B. Kristallviolett), Antibiotika u.a. eingesetzt. Stoffwechselleistungen werden mit pH-Indikatorfarbstoffen (Ansäuerung durch Zuckerabbau oder Alkalisierung durch Decarboxylierung von Aminosäu-

Tab. 4.6 Entdeckungsgeschichte der wichtigsten Erreger aus der Familie der *Enterobacteriaceae*.

Jahr	Erreger (damalige Bezeichnung)	Erstbeschreiber
1880/1884	*Salmonella enterica*, Serovar Typhi (Typhus Pilz/Typhusbacillus)	C. J. EBERTH (Nachweis) G. GAFFKY (Anzucht)
1883	*Klebsiella pneumoniae* (Micrococcen der Pneumonie/Kapselkokken)	C. FRIEDLÄNDER
1885	*Escherichia coli* (Bacterium coli commune)	TH. ESCHERICH
1888	*Salmonella enterica*, Serovar Enteritidis (Bacillus enteritidis)	A. GÄRTNER
1889	*Yersinia pseudotuberculosis* (Bacillus pseudotuberculosis rodentium)	R. PFEIFFER
1891	*Salmonella enterica*, Serovar Cholerasuis (Hogcholerabacillus)	TH. SMITH (D.SALMON 1886)
1892	*Salmonella enterica*, Serovar Typhimurium (Bacillus typhi murium)	F. LOEFFLER
1894	*Yersinia pestis* (Pestbazillus)	A. YERSIN
1898	*Shigella dysenteriae* (Bacillus dysenteriae)	K. SHIGA
1901	*Salmonella enterica*, Serovar Paratyphi A und B (Paratyphusbazillen)	H. SCHOTTMÜLLER
1917	Salmonella enterica, Serovar Paratyphi C (S. paratyphi C)	E. WEIL

ren) oder durch andere Indikatoren (H_2S-Bildung durch Überführung in schwarzes, unlösliches Eisensulfid) angezeigt. Folgende zwei Nährböden sind für die differenzierte Anzucht von *Enterobacteriaceae* besonders wertvoll und sollen hier beispielhaft erläutert werden.

- MACCONKEY-Agar: Der Zusatz von 1% Lactose und Neutralrot führt zu roten Kolonien bei Laktose-Abbau, wozu alle „coliformen Gattungen"/Arten in der Lage sind (Laktose-positiv, z.B. *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter*). Dagegen bilden die darmpathogenen Enterobakterien wie Salmonellen, Shigellen und Yersinien aufgrund ihrer Auxotrophie im Laktoseabbau farblose Kolonien. Darüber hinaus können auch die enteropathogenen Vibrionen und Aeromonaden auf MACCONKEY-Agar wachsen, während das Wachstum der meisten gram-positiven Bakterien durch die im Nähragar enthaltenen Gallensäuren und das Kristallviolett gehemmt werden. Bei Stühlen von Säuglingen und Kleinkindern müssen auch die Laktose-positiven Kolonien (*E. coli*) untersucht werden, um z.B. *E. coli* der Pathovare EHEC oder EPEC zu erfassen.
- *X*ylose-*L*ysin-*D*esoxycholat-(XLD)-Agar: Der XLD-Agar enthält drei Zucker (Saccharose, Xylose und Laktose), die bei Metabolisierung zur Ansäuerung führen (Phenolrot wird gelb) und Lysin, das bei Decarboxylierung zur Alkalisierung führt (Phenolrot wird rot). Darüber hinaus enthält das Medium noch Natriumthiosulfat / Ammoniumeisenzitrat zum Nachweis der H_2S-Produktion. Die coliformen Bakterien sowie *Proteus* spp. und *Serratia* spp. bilden gelbe Kolonien, da bei ihnen der Zuckerabbau bzw. die Ansäuerung überwiegen (mindestens zwei Zucker). Shigellen können keinen der vorhandenen drei Zucker abbauen und bei Salmonellen wird die Ansäuerung durch Abbau von Xylose durch die gleichzeitige Decarboxylierung von Lysin kompensiert, so daß eine Alkalisierung bzw. Rotfärbung der Kolonien entsteht. Salmonellen (außer *S. enterica*, Serovar Paratyphi A) produzieren zusätzlich H_2S, wodurch die Kolonien einen schwarzen Kern erhalten.

Eine noch höhere Selektivität als mit XLD-Agar wird mit dem Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin-(CIN)-Agar erzielt, der für die selektive Anzucht von enteropathogenen Yersinien verwendet wird (s. Kapitel 4.5).

Neben festen Selektivmedien haben sich auch flüssige Selektivmedien zur Anreicherung der Erreger bei niedrigen Konzentrationen im Untersuchungsmaterial bewährt (z.B. Stuhlproben bei Dauerausscheidern, Darmbiopsien, Gelenkpunktate bei reaktiver Arthritis). Für Salmonellen werden Tetrathionat-haltige oder Selenithaltige Medien zur Anreicherung bei 37 °C verwendet, während für Yersinien das Kältewachstum bei 5 °C durch Kälteanreicherung ausge-

Nach Isolierung und evtl. Subkultivierung verdächtiger Kolonien folgt die **Keim-Identifizierung** und **-Differenzierung**. Die Erregerart wird mit kommerziellen oder hauseigenen „Bunten Reihen" entsprechend des Stoffwechselleistungsprofils bestimmt. Eine weitere serologische Differenzierung ist bei Nachweis von Salmonellen, Shigellen und *Escherichia coli* erforderlich. Da einerseits das Erregerspektrum der infektiösen Gastroenteritis sehr umfangreich ist und andererseits das Keimspektrum sich bei Kenntnis von anamnestischen Patientendaten (Auslandsaufenthalt, Genuß von bestimmten Speisen, Patientenalter, Stuhlcharakteristika u.a.) einschränken läßt, wird eine mikrobiologische Stufendiagnostik für Stuhlproben durchgeführt. Im Basisprogramm bei enteritischen Stühlen wird nach Salmonellen, Shigellen, Yersinien und *Campylobacter jejuni* gesucht, bei Kleinkindern wird die *E. coli*-Diagnostik mitaufgenommen. Bei Hinweisen auf andere darmpathogene Erreger (*Vibrio cholerae*, Parasiten, Viren) wird das Diagnostikprogramm entsprechend erweitert (s. Kapitel 11.4).

4.4.1 Die Gattung Salmonella

Gattung, Art, Subspezies, Serovar

Die biochemische und serologische Charakterisierung von Salmonellen-Isolaten von Menschen, Tieren und aus der Umwelt hat aufgrund der großen genotypischen und phänotypischen Variabilität in der Vergangenheit zur Benennung einer Vielzahl von *Salmonella*-Arten geführt (z.B. *S. typhi*, *S. typhimurium* etc.). rRNA-Sequenzvergleiche sprechen aber gegen diese Spezies-Vielfalt und für die Unterteilung der Gattung *Salmonella* in zwei Arten. Aufgrund der Heterogenität der metabolischen Leistungen von Salmonella enterica-Isolaten wurde *S. enterica* in sechs Subspezies, die mit Namen oder Nummern bezeichnet werden, unterteilt

- *Salmonella enterica*
- Subspezies *enterica* (I)
- Subsp. *salamae* (II)
- Subsp. *arizonae* (IIIa)
- Subsp. *diarizonae* (IIIb)
- Subsp. *houtenae* (IV)
- Subsp. *indica* (V)
- *Salmonella bongori*

Interessanterweise gehört die Subspezies *enterica* zu den typisch humanpathogenen Salmonellen, während die übrigen Subspezies II-III nur sporadisch bei Durchfallpatienten, aber häufiger bei Geflügel-Darmerkrankungen isoliert werden. Die anderen *S. enterica* Subspezies IV und V sowie die Spezies *S. bongori* kolonisieren den Darmtrakt von Kaltblut-Tieren wie z.B. Reptilien oder Schildkröten.

4

Pathogenität

Salmonellen sind während der letzten zwanzig Jahre zum Modellerreger für die molekularbiologische und zellbiologische Analyse der Darminvasivität und der fakultativen intrazellulären Lebensweise aufgestiegen. Das hat verschiedene Gründe:

- Der Salmonellen-Infektionsprozeß kann sehr gut in Zellkultur und im Mausinfektionsmodell (orales oder parenterales Modell) untersucht werden
- Salmonellen sind genetisch sehr gut manipulierbar
- Es existieren diverse Pathovare mit unterschiedlicher Wirtsspezifität.

Aus den Ergebnissen der histopathologischen Analyse des Infektionsprozesses von *Salmonella* Typhimurium in Versuchstieren wurden zahlreiche Pathogenitätsfunktionen postuliert. Hierzu gehören die Adhärenz an und die Internalisierung durch Darmepithel und M-Zellen der PEYER-Plaques (Abb. 4.13), Entzündungsinduktion (Infiltration der Darmmukosa mit neutrophilen Granulozyten), Elektrolytsekretion, Abtötung von Zellen, intra- und extrazelluläres Überleben, Dissemination von der Darmmukosa über mesenteriale Lymphknoten in Blutbahn, Milz und Leber u.a.

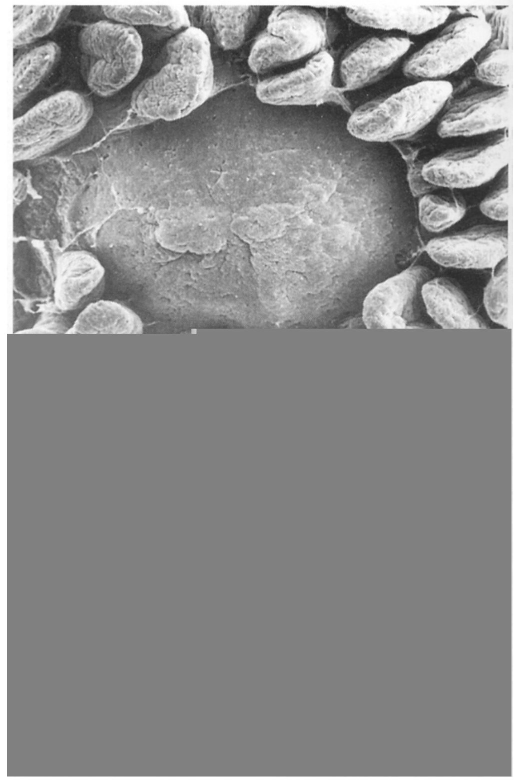


Abb. 4.13 Raster-Elektronenmikroskopische (REM) Darstellung der Darmmukosaoberfläche im Bereich eines PEYER-Plaques (PP) der Maus. Oben in der Übersicht ist ein sog. Dom mit Follikel-assoziiertem Epithel (FAE) umgeben von Darmzotten gezeigt (Meßstrich: 200 µm). In der Ausschnittsvergrößerung (unten, Meßstrich: 10 µm) ist das mit Bürstensaum besetzte FAE zu sehen und eingestreut neun isoliert vorliegende „microfold cells" (M-Zellen). (Aufnahme: AUTENRIETH/FIRSCHING)

Während der letzten Dekade wurden die wichtigsten chromosomalen und extrachromosomalen Determinanten, die an bestimmten Schritten des Infektionsprozesses beteiligt sind, charakterisiert. Wie in Tab. 4.8 dargestellt, sind Pathogenitätsdeterminanten bei Salmonellen in größere Funktionseinheiten (7–40 kb) zusammengefaßt. Diese Merkmale sprechen dafür, daß Determinanten durch horizontalen Gentransfer (z.B. Transduktion oder Konjugation) von Salmonellen erworben und in das Genom integriert wurden (häufiger Insertionsort: tRNA Gene). Diese chromosomalen Bereiche werden deshalb auch als **Salmonella *P*athogenitäts-*I*nseln** (SPI) bezeichnet. Durch Deletionen von Mobilitätsregionen in den SPI-flankierenden Bereichen wurden die SPIs dann im Laufe der Wirtsadaptation stabilisiert. Die zuerst entdeckte SPI-1 trägt Gene für einen TypIII Protein-Sekretions-Translokationsapparat und für Effektorproteine, die für die Darminvasivität verantwortlich sind. Bei der Interaktion von Salmonellen mit den Wirtszellen werden im Bereich der Kontaktstelle (z.B. M-Zellen der PEYER-Plaques) der TypIII-Apparat aktiviert und die Effektorproteine in das Zytosol „injiziert". Das Effektorprotein SopE aktiviert über Aktinpolymerisierung das „ruffling" bzw. die Makropinozytose (tulpenartige Ausstülpung der Zellmembran), wodurch die Salmonelle internalisiert wird (Abb. 4.14 und 4.15). Durch das GTPase-aktivierende Protein SptP wird das „ruffling" dann wieder abgeschaltet. Die im Phagosom eingeschlossenen Salmonellen inaktivieren danach die Genexpression der SPI-1 und aktivieren die Genexpression der übrigen Pathogenitätsinseln (SPI-2 bis SPI-5). Die SPI-2 besitzt einen eigenen Typ III-Transportapparat, der Effektorproteine durch die Phagosomenmembran in das Zytosol oder in die Phagosomenmembran transloziert. Zusammen mit den Determinanten von SPI-3 bis SPI-4 und dem *<u>S</u>almonella*-*V*irulenz*p*lasmid (SVP) haben Salmonellen das Rüstzeug für intrazelluläres Überleben und Vermehren im Phagosom von warmblütigen Tieren. Hierzu gehören Funktionen wie Inhibition von Endosom-Endosom-Fusion, Versorgung mit zweiwertigen Kationen unter extrem niedrigen Konzentrationsverhältnissen (SPI-3: Mg^{2+}-Transport), Abtötung von Wirtszellen (insbesondere Makrophagen) durch programmierten Zelltod (Apoptose, SipB) u.a. Durch Apoptose freige-

4

bei Freiwilligenversuchen) dauert die **Inkubationszeit** 8 bis 14 Tage. In seltenen Fällen sind Inkubationszeiten von mehr als vier Wochen beschrieben worden. Die natürliche Infektionsdosis liegt wahrscheinlich weit unter 10^5 Salmonellen. Nach Magen-Darm-Passage werden die Salmonellen von M-Zellen der PEYER-Plaques und

teriämie und das hohe Fieber gehen über in ein Kontinuum **(2. Stadium, *Stadium acmes*)**. Die Patienten werden häufig apathisch und desorientiert (typhos: griechisch Nebel, Rauch), nicht selten auch psychotisch. In diesem zweiten Stadium kann es zu Pneumonie, Myokarditis, Durchfall mit erbsbreiartigen Stühlen, zu Ne-

zeitlicher Verlauf	1. Woche Inkubation	2. Woche Stadium	3. Woche Stadium	4. Woche Stadium	5. Woche Recon-	6. –10. Woche Rezidiv	

nellen dauert in der Regel 3 Monate und seltener bis zu einem Jahr. Bei 2–5% der Typhus-Patienten können die Erreger lebenslang in der Gallenblase persistieren und über den Darm ausgeschieden werden (bis zu 10^9 Salmonellen/g Stuhl). Zu dieser als **Dauerausscheider** bezeichneten Gruppe zählen hauptsächlich Erwachsene mit vorgeschädigter entzündlicher Gallenblase (insbesondere Frauen). Infektionen mit *Salmonella enterica* Serovar Paratyphi führen seltener zur Dauerausscheidung als die mit Serovar Typhi.

Die Dauerausscheider haben aufgrund der chronischen Cholezystitis ein erhöhtes Risiko für Gallenblasenkrebs.

Da die Klinik des Typhus/Paratyphus meist unspezifisch beginnt, können Hinweise über Aufenthalt in Endemiegebieten (Südamerika, Südostasien, Afrika) diagnostisch wichtig sein. Differentialdiagnostisch müssen Malaria, viszerale Leishmaniasis, Dengue-Fieber u.a. bedacht werden.

Laboratoriumsdiagnose

In Abb. 4.16 ist der zeitliche Verlauf der verschiedenen Infektionsstadien beim Typhus/Paratyphus sowie die zu erwartenden Ergebnisse der Kulturen aus entsprechenden Proben dargestellt. Während der Inkubationszeit gelingt es in wenigen Fällen aus Blut- oder Stuhlproben bei Patienten mit Prodromalsymptomatik typhöse Salmonellen anzuzüchten. In 50–70% der Fälle werden die Erreger im 2. Stadium während des Fieberkontinuums aus Blutkulturen (2–3 Blutkulturen im zeitlichen Abstand von 2–10 Stunden abnehmen) isoliert. Stuhlproben werden i.d.R. erst zum Ende des 2. Stadiums positiv. Auch Urinproben und Duodenalsaft sollten untersucht werden. Die aufwendigsten, aber sichersten Untersuchungsproben sind Knochenmarkspunktate (85–95% der Fälle positiv in Kultur). Aus diesen Proben können typhöse Salmonellen auch nach erfolgter Antibiotikatherapie oder während der Rekonvaleszenz angezüchtet werden. Stuhlproben sind bei Kindern häufiger positiv (60%) als bei Erwachsenen (27%). Aufgrund des schweren Krankheitsbildes und der Differentialdiagnostik sollten bei Verdacht auf Typhus/Paratyphus grundsätzlich Stuhl, Urin, Blutkulturen und evtl. Duodenalsaft mikrobiologisch untersucht werden. Bei entsprechender Fragestellung ist auch die aufwendige Punktion von Knochenmark zur Gewinnung von Untersuchungsmaterial indiziert.
Zur Anzucht werden Anreicherungs- und Selektivmedien sowie Blutagar benutzt (s.o. „Isolierung, Kultivierung und Differenzierung von *Enterobacteriaceae*"). Verdächtige Kolonien werden auf biochemische Leistungen untersucht und serologisch typisiert. Frisch isolierte *Salmonella* Typhi agglutinieren mit Vi-Antiserum und nach Hitzezerstörung der Kapsel mit O- und H-spezifischen Seren (Objektträgeragglutination, KAUFFMANN-WHITE-Schema, s. Tab. 4.7). Die serologische Diagnostik mittels O- und H-Titerbestimmung (WIDAL-Agglutination) ist unsicher. Die in der ersten Krankheitswoche festgestellten Agglutinationstiter sind aufgrund zu geringer Spezifität diagnostisch wenig hilfreich (z.B. Kreuzreaktivität mit Serovar Enteritidis, Gruppe D1, s. Tab. 4.7). Bei Kindern sind serologische Untersuchungen (O- und H-Titer) am sinnvollsten.
Antikörper gegen das Kapselpolysaccharid Vi werden nicht in der akuten Phase sondern erst in der Rekonvaleszenz gebildet. Der Vi-Antikörper-Test (ELISA, Hämagglutination) ist bei Dauerausscheidern positiv und ist daher für diese Gruppe als Suchtest geeignet (Bestätigung durch Anzucht aus Stuhlproben oder Duodenalsaft anschließend erforderlich).

Therapie

Typhus/Paratyphus sind Antibiotikatherapiepflichtige Infektionskrankheiten. Vor fünfzig Jahren konnte bereits die Mortalität des Typhus durch Chloramphenicol-Therapie von 20–30% auf unter 1% gesenkt und die hoch fieberhafte Krankheitsphase von 10–20 Tagen auf 3–5 Tage verkürzt werden. Allerdings erhöhte sich nach Chloramphenicol-Therapie die Rate der Dauerausscheider auf 10–25%. Auch kann eine zu früh begonnene Chloramphenicol-Therapie die Rezidivrate als Folge einer nur schwachen spezifischen Immunantwort und der bakteriostatischen Wirkung von Chloramphenicol erhöhen. Auch aufgrund der Toxizität von Chloramphenicol werden heute Drittgenerationscephalosporine (z.B. Ceftriaxon), Ampicillin/Amoxycillin, Cotrimoxazol und als Mittel der 1. Wahl Fluorchinolone (z.B. Ciprofloxacin, 2 × 500 mg/Tag für 10–14 Tage) bevorzugt. Auch Dauerausscheider können mit Ciprofloxacin effektiv saniert werden (Therapiedauer: 4 Wochen), so daß

auf die Gallenblasenresektion verzichtet werden kann.

Epidemiologie

In den Industriestaaten wie USA und Deutschland ging die Inzidenz von Typhus/Paratyphus nach dem zweiten Weltkrieg von ca. $40/10^5$ auf $0{,}1/10^5$ Einwohner pro Jahr rapide zurück. Seit einigen Jahren liegt in Deutschland die Zahl der gemeldeten Typhus- und Paratyphusfälle jeweils bei ca. 75 pro Jahr. Es handelt sich hier vorwiegend um „importierte Infektionen" durch Touristen oder Gastarbeiterfamilien aus Endemiegebieten. Typhusausbrüche sind in Deutschland selten geworden, was als Erfolg der strikten Lebensmittelüberwachung, des Meldesystems und der Sanierung von Dauerausscheidern zu bewerten ist. Da der Mensch der einzig relevante Wirt für typhoide Salmonellen ist, sind schlechte hygienische Lebensbedingungen Grundlage für das endemische Vorkommen dieser Erreger. Zu den Endemiegebieten gehören nichteuropäische Mittelmeerländer, Südostasien, Afrika, Zentral- und Südamerika. Neben den ländlichen Regionen zählen auch die Großstädte zu Endemiegebieten. Als primäre Infektionsquelle fungieren Erkrankte und besonders Dauerausscheider, die Trinkwasser und Lebensmittel (sekundäre Infektionsquelle) kontaminieren.

Prävention

Endemiegebiete: Die Infektion mit Typhuserregern erfolgt in der Regel durch kontaminierte Lebensmittel. Wirkungsvoll ist deshalb eine *Expositionsprophylaxe*, d.h. Nahrungsmittel inklusive Trinkwasser sollten vor dem Genuß ausreichend erhitzt und Obst sollte frisch geschält werden. Eine Antibiotikaprophylaxe hat sich nicht als zweckmäßig erwiesen.

Für die von der WHO genannten Endemiegebiete Zentral- und Südamerika, Afrika und Südostasien (insbesondere auch Großstädte wie Kairo, Jakarta, Bombay, New Delhi, Karachi

Maßnahmen in Nicht-Endemiegebieten sind:

- frühzeitige Identifizierung von Erkrankten, deren Kontaktpersonen und der Infektionsquelle (z.B. Trinkwasser, Lebensmittel u.a.)
- Identifizierung und Kontrolle von Dauerausscheidern, insbesondere von Beschäftigten in Lebensmittelbetrieben, Verpflegungseinrichtungen (Gaststätten, Großküchen u.a.) und Gemeinschaftseinrichtungen (z.B. Schulen, Krankenhäuser).

Um dieses Ziel zu erreichen, wurde sowohl die **Meldepflicht** bei Krankheitsverdacht, Erkrankung und Tod an Typhus oder Paratyphus sowie bei Ausscheidung von *S.* Typhi, *S.* Paratyphi A, B, oder C nach §6 und §7 Infektionsschutzgesetz (IfSG) als auch die **Überwachung** der Erkrankten oder Ausscheider durch das regionale Gesundheitsamt eingeführt. Dieser Personenkreis wird so lange überwacht, bis drei Stuhlproben im Abstand von jeweils zwei Tagen für typhöse Salmonellen negativ sind (1. Stuhlprobe frühestens 2 Tage nach letzter Antibiotikagabe). Erkrankte oder Ausscheider dürfen nach §42 IfSG nicht in Betrieben beim Herstellen, Behandeln oder Inverkehrbringen bestimmter Lebensmittel (z.B. Fleisch, Geflügel, Milch, Fisch, Eiprodukte, Speiseeis, Säuglingsnahrung u.a.) tätig werden.

4.4.3 Enteritische Salmonellen – Salmonellosen

Pathogenese und Klinik

Die enteritischen Salmonellen unterscheiden sich hinsichtlich ihres Pathogenitätsrepertoires nur wenig von den typhösen Salmonellen (s. Tab. 4.8). Um so erstaunlicher sind die großen Unterschiede in der Pathogenese und im klinischen Verlauf zwischen *Salmonella*-Enteritis und *Salmonella*- Typhus/Paratyphus. Nach oraler Aufnahme über Nahrungsmittel (Infektionsdosis: 10^3-10^5) invadieren enteritische Salmonellen in das Darmmukosaepithel und die M-Zel-

4

chronischen Osteomyelitiden oder septischen Arthritiden der unteren Extremitäten führen. Bei älteren Menschen (z.B. Salmonellenepidemien in Altersheimen) führt eine Salmonellose nicht selten zur Sepsis mit hoher Letalität. Zu den Grunderkrankungen, die als Dispositionsfaktoren für systemische oder fokale Salmonelleninfektionen anerkannt sind, gehören hämolytische Anämien, vorgeschädigtes Endocard, Aortenaneurysma und Arteriosklerose.

Zu den typischen **Folgeerkrankungen** einer Salmonellose gehört die **reaktive Arthritis** (bei ca. 2% der Salmonellosen), die nicht selten mit Urethritis und einer Iridozyklitis/Konjunktivitis (REITER-Trias) assoziiert ist. Bei der reaktiven Arthritis handelt es sich um eine Synovitis unter häufiger Beteiligung der Gelenke der unteren

dien (Selenit- oder Tetrathionatbouillon) zu inkubieren. Darüber hinaus kann Serum für die serologische Diagnostik (WIDAL-Agglutination, ELISA) auf spezifische Antikörper untersucht werden. Titerbewegungen um vier Verdünnungsstufen von paarigen Seren im Abstand von 1–2 Wochen sind für eine vor kurzer Zeit durchgemachte Salmonellose hinweisend.

Therapie

Unkomplizierte Verläufe einer Salmonellen-Gastroenteritis werden symptomatisch durch Flüssigkeit- und Elektrolytzufuhr therapiert. Eine Antibiotikatherapie (z.B. Amoxicillin oder Fluorchinolon) verkürzt die enteritische Phase kaum und führt gehäuft zu Rezidiven und ver-

nate in Staub, 5 Monate in Fäzes und über 4 Jahre in Trockeneipulver überleben.
Schwach saure Medien (bis pH 4,5) und Temperaturen zwischen 7 °C und 46 °C wirken nicht vermehrungshemmend. Nicht ausreichend erhitztes Fleisch (z.B. Tiefkühlhühnchen, die vor dem Grillprozeß nicht vollständig aufgetaut waren) oder Speisezubereitungen mit Roheiern (Eis, Eiscreme), die nicht schnell abgekühlt wurden, sind häufige Infektionsquellen für Salmonellosen. In diesen Fällen liegen gute Bedingungen für ein schnelles Vermehren der Salmonellen in dem zunächst gering kontaminierten Lebensmitteln vor. Hieraus ergibt sich auch, daß im Sommer und Frühherbst die Salmonellosen am häufigsten sind. Auch wenn über die Medien immer wieder über Salmonellose-Ausbrüchen berichtet wird (z.B. Hochzeitsfeier, Kongreßkantine, Krankenhaus), so ist die Mehrzahl der Salmonellosefälle privaten Haushalten zuzuordnen (Mangelhafte Küchenhygiene!).
Für epidemiologische Analysen werden Salmonellen über die Identifizierung des Serovars hinaus auch mittels eines Bakteriophagen-Sets lysotypisiert. Von den Salmonellenisolaten sind z.Zt. in Deutschland ca. 58% vom Serovar Enteritidis, von denen 80% dem Lysotyp PT4 (LT 4/6) angehören. Die Serovar Enteritidis zeigt bisher keine Antibiotikamultiresistenz. Anders verhält es sich mit der Serovar Typhimurium, Lysotyp DT 104, die als multiresistenter Epidemiestamm bekannt ist (Resistenz gegen Tetracyclin, Chloramphenicol, Sulfonamid, Betalaktamantibiotika). Die Salmonellosen sind mit ca. 80 000–100 000 gemeldeten Fällen pro Jahr die häufigsten bakteriellen Durchfallerkrankungen in Deutschland (wahrscheinlich werden nur 10% der Salmonellosen gemeldet).
Zur Prävention wird versucht, die Nutztierbestände (insbesondere Geflügelfarmen) Salmonellen-frei zu bekommen. Darüber hinaus sollten Aufklärungen über den Übertragungsweg der Salmonelleninfektion und die daraus folgenden Hinweise für strenge küchenhygienische Maßnahmen präventive Wirkungen zeigen.
Nach dem neuen Infektionsschutzgesetz (IfSG) sind der Verdacht auf oder die Erkrankung an Salmonellose nur dann **meldepflichtig** (§6), wenn Personen betroffen sind, die in Küchen von Gaststätten und sonstigen Einrichtungen mit oder zur Gemeinschaftsverpflegung tätig sind oder wenn zwei oder mehr gleichartige Erkrankungen ... weis von enteritischen Salmonellen bei Erkrankten ist nach §7 IfSG meldepflichtig.

4.4.4 Shigellen und die Gattung Escherichia

Gattung, Art, Serovar, Pathovar

Aus historischen und praktischen Gründen werden die Shigellen als eigenständige Gattung geführt, auch wenn phylogenetische Daten dagegen sprechen. DNA-DNA Hybridisierungen zwischen Shigellen und *Escherichia coli* und DNA-Sequenzvergleiche von konservierten Genen (rDNA, Malatdehydrogenasegen und andere „housekeeping"-Gene) weisen darauf hin, daß die vier *Shigella*-Arten der Art *Escherichia coli* zuzuordnen sind. Man unterscheidet:
- *S. dysenteriae*
- *S. flexneri*
- *S. boydii*
- *S. sonnei*

Die DNA-Sequenzvergleiche haben zudem weitere überraschende Ergebnisse erbracht:
1. Shigellen sind wahrscheinlich erst vor 50 000 bis 250 000 Jahren nach Aufnahme eines ca. 200 Kilobasen-großen Virulenzplasmids aus *E. coli* hervorgegangen. Das Virulenzplasmid befähigt Shigellen, die Darmmukosa von Hominiden zu durchdringen und sich intrazellulär auszubreiten. Damit haben Shigellen im Unterschied zur normalen *E. coli*-Darmflora (Kommensalen) eine neue ökologische Nische (intrazellulär, submukosal) gefunden. Durch diese „Standortveränderung" begünstigt, haben sich wahrscheinlich chromosomale Mutationen bei Shigellen durchgesetzt, die sich phänotypisch als Defekte in bestimmten metabolischen Genen (z.B. Verlust der Laktoseverwertung und der Lysindecarboxylierung) und Motilitätsgenen (Shigellen sind im Gegensatz von *E. coli* unbeweglich) manifestieren. Inwieweit diese Gendefekte (sog. „black holes") einen Selektionsvorteil für Shigellen haben, ist noch unklar.
2. Die verschiedenen Shigellen sind nicht aus einem *E. coli*-Vorläuferklon, sondern aus verschiedenen Klonen, die das Virulenzplasmid erhalten haben, entstanden. Heute können wir die Shigellen phylogenetisch auf drei Hauptgruppen und einige Einzelklone verteilen:
- Gruppe 1:
  S. boydii
  S. dysenteriae-Stämme
  einige *S. flexneri*-Stämme
  Gruppe 2:
  S. boydii
  einige *S. dysenteriae*-Stämme

4

4

Pathogenese und Klinik der Shigellose

Shigellen werden über kontaminierte Lebensmittel (inkl. Trinkwasser) aufgenommen. Nach Magenpassage vermehren sie sich im Dünndarm (10^7 Erreger/ml) und invadieren dann die Darmmukosa wahrscheinlich zunächst über M-Zellen, die die PEYER-Plaques bedecken (terminales Ileum). Es wird auch diskutiert, daß Shigellen den dichten Mukosazellverband auflockern können (Zerstörung der „tight junctions"), um basolateral Bürstensaumzellen zu invadieren. Diese erste Infektionsphase führt innerhalb von 2–5 Tagen (Inkubationszeit) zu einem akuten Krankheitsgefühl mit Fieber, Abgeschlagenheit, Bauchschmerzen und wässrigem Durchfall. Nach 4–12 Stunden kann dieses Krankheitsbild übergehen in das der klassischen **Dysenterie**

Krankheitsbilder mit Krampfanfällen beobachtet. Der Liquor ist in diesen Fällen unauffällig (Pseudomeningitis). Die Pathogenese dieser neurologischen Krankheitsbilder ist unbekannt. Wie bei anderen invasiven bakteriellen Darminfektionen werden auch bei Shigelleninfektionen in 5–20% der Fälle 1–2 Wochen nach Krankheitsbeginn reaktive Arthritiden beobachtet (selbstlimitierte Oligoarthritis, häufig mit HLA-B27 assoziiert). Bei Patienten mit gutem Allgemeinzustand heilt eine Shigellose nach 6–10 Tagen spontan aus. Bei schlechtem Ernährungszustand kann sich eine Shigellose als rezidivierende Erkrankung über Wochen hinziehen und die Shigellen-Ausscheidung über Monate persistieren.

Tab. 4.12 Differenzierungsmerkmale der Gattung *Escherichia* einschließlich *Shigella*-Arten

Metabolische Aktivität	*E. coli*	*E. fergusonii*	*E. hermanni*	*E. vulneris*	*S. dysenteriae* *S. flexneri* *S. boydii*	*S. sonnei*
Beweglichkeit	+	+	–	–	–	–
Gelbes Pigment	–	–	+	–	–	–
Indolproduktion	+	+	+	–	+/–	–
Lysindecarboxylase	+	+	–	+/–	–	–
Ornithindecarboxylase	+/–	+	+	–	–	+
Fermentation von:						
Glukose mit Gas	+	+	+	+	–	+
Laktose	+	–	+/–	+/–	–	–
D-Sorbitol	+	–	–	–	+/–	–
D-Mannitol	+	+	+	+	+	+

Ausgleich der in der Regel mäßigen Elektrolytverluste können Salz-Zuckerlösungen oral zugeführt werden.
Bei schweren Verläufen sind Infusionen mit Kochsalz und Glukose zur Behebung der Hyponatriämie und Hypoglykämie angezeigt. Infektionen mit *S. dysenteriae* O1 und *S. flexneri* sollten frühzeitig auch mit Antibiotika behandelt werden, um komplizierte Verläufe (HUS, toxisches Megacolon, Sepsis u.a.) zu verhindern. Im Gegensatz zum HUS durch enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC), kann die Entwicklung eines HUS bei *S. dysenteriae* O1-Infektion durch Antibiotika verhindert werden. Wahrscheinlich hängt dieser Unterschied damit zusammen, daß bei EHEC die Phagen-kodierten Shigatoxine Antibiotika-abhängig produziert werden, was für das chromosomal-kodierte Shigatoxin von *S. dysenteriae* O1 nicht gilt.
Da Shigellen häufig chromosomale und extrachromosomale Antibiotikaresistenzgene tragen (z.B. gegen Streptomycin, Tetracyclin, Chloramphenicol, Ampicillin, Trimethoprim-Sulfmethoxazol/TMZ), sollte unbedingt ein Antibiogramm angefertigt werden. Als sichere Soforttherapie können 3. Generationscephalosporine oder 4-Fluorchinolone gegeben werden. Falls empfindlich, werden Ampicillin oder TMZ als 1. Wahl empfohlen. Auch eine 1–2 Tagestherapie mit Chinolonen hat sich als erfolgreich erwiesen.

Epidemiologie der Shigellose

Shigellen kommen besonders häufig in Ländern mit hygienisch unzureichenden Lebensbedingungen vor (Südostasien, Mittel- und Südamerika, Afrika u.a.). In diesen Ländern sind *S. dysenteriae* O1 und *S. flexneri* am häufigsten. In Deutschland waren früher *S. flexneri* und *S. sonnei* endemisch. Heute werden Shigellosen durch Touristen, die sich im Urlaubsland infiziert haben, „importiert" (gemeldete Shigellosen pro Jahr in Deutschland 1200–1500 Fälle).

Prävention der Shigellose

Das Shigellen-Reservoir ist auf den Menschen begrenzt. Aufgrund der hohen Infektiosität der Shigellen können Übertragungen direkt durch Kontakt mit Infizierten erfolgen oder über kontaminierte Lebensmittel (fäkale Verunreinigung, Übertragung durch Fliegen). Präventive Maßnahmen müssen sich deshalb auf die Identifizierung und Kontrolle der Infizierten (z.B. Hygienebelehrung, gesonderte Toiletten) und auf Hygienemaßnahmen wie Abdeckung von Latrinen in Zeltlagern, Pasteurisierung von Lebensmitteln (inkl. Trinkwasser) in Endemiegebieten, Händewaschen (ggf. mit Desinfektionsmittel) u.a. konzentrieren. Über die erworbene Immunität gegen Shigellose bestehen keine klaren Vorstellungen. Wahrscheinlich verhindern Serumantikörper gegen Shiga-Toxin extraintestinale Komplikationen (z.B. HUS). Einen Impfstoff gegen Shigellen gibt es nicht. Fluorchinolone sind prophylaktisch bei Kurzaufenthalten in Endemiegebieten wirksam, werden aber nicht empfohlen. In Deutschland sind nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG §7) der direkte oder indirekte Nachweis einer akuten Shigellose namentlich zu **melden**.

4.4.5 Escherichia coli

Pathogenität

Escherichia coli gehört zur normalen Darmflora des Menschen und warmblütiger Tiere. In die Umwelt gelangt *E. coli* über fäkale Ausscheidungen. Da kein natürliches Habitat für *E. coli* in der Umwelt bekannt ist, wird der Nachweis von *E. coli* in Lebensmitteln und Wasser als Hinweis einer fäkalen Verunreinigung bewertet (Fäkalindikatorkeim). Die humanmedizinische Bedeutung von *E. coli* war bereits vor hundert Jahren TH. ESCHERICH klar. Allerdings war es schwierig, das Virulenzpotential von *E. coli* Isolaten vorherzusagen. Mit der Einführung von molekularen Methoden (Gensonden, Sequenzvergleiche, *M*ulti*l*ocus*e*nzym*e*lektrophorese, MLEE) kann jetzt *E. coli* weit besser charakterisiert und die Evolution der Pathogenität verstanden werden. *E. coli*-Isolate der normalen Darmflora von gesunden Menschen können phylogenetisch fünf Gruppen zugeordnet werden (A, B1, B2, D und E). Es fällt auf, daß

tionen, Pneumonien, Cholezystitis, Abszesse u.a. Gemeinsam ist all diesen Infektionen eine Abwehrschwäche des Wirtes aufgrund einer Vorschädigung von Infektionsbarrieren (Hautverletzung, Gallensteine, Darmmukosaschädigung, Hypoxie von Schleimhäuten, operative Eingriffe, Immunsuppression etc.), eine Störung der autochthonen Flora z.B. durch Antibiotika, Chemotherapie sowie die Kolonisierung der Patienten mit dem jeweiligen Erreger-Isolat im Darm **(endogene Infektion).** Die Erreger können durch Schmierinfektion vom Perianalbereich in die Harnwege oder Wunden gelangen (Pathogenese der Harnwegsinfektionen s. Kapitel 11.9). Nicht selten werden die Erreger auch von medizinischem Personal von Patient zu Patient übertragen (Prävention durch Händedesinfektion).

Darüber hinaus spielt *E. coli* eine wichtige Rolle als Sepsiserreger (ca. 30% der gram-negativen Blutkulturisolate sind *E. coli*). Die Dissemination in die Blutbahn kann von infizierten Harnwegen, Gallenwegen oder Abszessen ausgehen. Die „Translokation“ der Erreger von der Darm-

Laboratoriumsdiagnose und Therapie

nächst breit mit z.B. Cephalosporinen der 3. Ge-



4

für ein gehäuftes Vorkommen bei Kleinkindern mit chronisch-persistierenden Durchfällen in Europa. Die enteropathogenen *E. coli* (**Pathovar EPEC**) waren früher häufig in Europa für Durchfallepidemien in Kinderkliniken und Kindergärten verantwortlich (Säuglingsenteritis, Dyspepsie-Coli), wogegen heute EPEC-Infektionen überwiegend in tropischen und subtropischen Ländern mit schlechtem Hygienestatus vorkommen. Enterotoxische *E. coli* (**ETEC**) und enteroinvasive *E. coli* (**EIEC**) kommen fast ausschließlich in warmen Ländern mit schlechtem Hygienestatus vor und werden, wie auch EPEC, typischerweise durch Touristen „importiert" (**Reisediarrhoe**). Die medizinische Bedeutung der diffus-adhärenten *E. coli* (**DAEC**) ist am wenigsten untersucht. In Frankreich und Südamerika wurden DAECs gehäuft bei Kindern mit wässrigen Durchfällen isoliert. Im Folgenden sollen die wichtigsten Punkte dieser Pathovarietäten besprochen werden.

4.4.7 Enterohämorrhagische E. coli (EHEC)

Pathogenität

Die Pathogenität der Pathovar EHEC wird im wesentlichen von drei genetisch mobilen Elementen bestimmt (s. Tab. 4.13): Pathogenitätsinsel LEE, Shigatoxin-konvertierende lambdoide Phagen und Virulenzplasmide. Im ersten Schritt binden die Erreger über fimbrielle Adhäsine („distanziert") am Bürstensaum der Colonozyten (Abb. 4.15 und 4.17). Sie produzieren eine Proteintransportröhre, die die Wirtszellwand kontaktiert. Es folgt dann der Transport bzw. die *T*ranslokation des *I*ntimin *R*ezeptors (TIR) und die Insertion von TIR in die Bürstensaummembran. TIR bewirkt dann die Akkumulation von Aktinfilamenten, die zur breiten Ausstülpung von Mikrovilli und Bildung eines Adhärenzpodestes führt, so daß das Bakterium über Intimin an TIR binden kann. Die Colonepithelzellen verlieren ihren Bürstensaum („effacement") und damit ihre Elektrolytresorptionsfähigkeit. An der zytotoxischen Schädigung der Colonzellen sind wahrscheinlich die **Phagen-kodierten Shigatoxine Stx1 und Stx2** sowie das Plasmid-kodierte Hämolysin und die Serinprotease beteiligt. Die Shigatoxine Stx1 und Stx2 von EHEC spalten die rRNA der Wirtszellribosomen (Proteinsyntheseinhibition) und wirken zytotoxisch. Sie gelangen auch in die Blutzirkulation und können wahrscheinlich zusammen mit Endotoxin Endothelzellen und Glomeruli der Niere schädigen und so zum hämolytisch-urämischen Syndrom führen (HUS). Durch subinhibitorische Konzentrationen von Antibiotika (insbesondere Cotrimoxazol, Fluor-Chinolone, Azithromycin, Gentamicin u.a.) wird die Stx-Produktion *in vitro* stark induziert. Dieses Phänomen könnte erklären, warum Patienten mit EHEC-Infektionen und hämorrhagischer Colitis nach Antibiotikatherapie (inkl. Betalactam-Gruppe) besonders häufig ein HUS entwickeln. Bemerkenswert ist auch, daß überwiegend die EHEC-Stx1/Stx2-Doppelproduzenten, nicht aber die auch vorkommenden Stx1-Monoproduzenten ein HUS verursachen können. Die Shigatoxine von *E. coli* wurden früher als Verotoxine bezeichnet, da sie zytotoxisch für Vero-Zellen (Affennierenzelllinien) sind. Da auch *S*higa*t*oxin-*p*roduzierende <u>*E. c*</u>*oli* (STEC) vorkommen, die LEE-negativ sind, kann die Pathovar EHEC als eine Untergruppe des STECs betrachtet werden.

Pathogenese und Klinik

Enterohämorrhagische *E. coli* werden i.d.R. über kontaminierte Rindfleisch- und Milchprodukte, die nicht ausreichend erhitzt wurden, sowie kontaminierte Salate und Gemüse (bedingt durch Fäkaldüngung) übertragen. Aufgrund der Säureresistenz reicht die Aufnahme von 10–100 Erreger für eine akute Infektion aus. Nach Passage des Magen-Dünndarmtraktes adhärieren die Erreger am Colonepithel und verursachen zunächst hämorrhagische Läsionen mit ödematösen Veränderungen der Mukosa und Submukosa. Nach einer **Inkubationszeit** von 1–3 Tagen (max. 8 Tagen) entwickeln insbesondere Säuglinge, Kleinkinder und alte Menschen eine Colitis mit wässrigen Durchfällen, Bauchkrämpfen, Erbrechen und subfebrilen Temperaturen (Krankheitsdauer 7–10 Tage). Bei 20% der Fälle (noch häufiger bei alten Menschen) verschlimmert sich das Krankheitsbild (blutiger Durchfall, enterohämorrhagische Colitis, EC). Bei etwa 5–10% dieser Patienten können wenige Tage nach der Colitis extraintestinale Krankheitsbilder entstehen wie das **HUS** (mikroangiopathische hämolytische Anämie, akutes Nierenversagen mit Urämie und Thrombozytopenie, insbesondere bei Kindern unter 6 Jahren) und die **thrombotisch-thrombozytopenische Purpura** (TTP, insbesondere bei Erwachsenen). Darüber hinaus werden in einigen Fällen neurologische Symptome (z.B. Krampfanfälle wie bei *Shigella dysenteriae*-Infektion) und Schädigungen des Pankreas beschrieben. Das HUS ist die schwerwiegendste Folgeerkrankung der EHEC-Infektion. Bei 15–30% der HUS-Fälle kommt es zu irreversiblen dialysepflichtigen Nierenschädigungen, 2–10% überleben das HUS nicht. EHEC-Infektionen bei Jugendlichen und Erwachsenen (bis ca. 65 Jahre) verlaufen i.d.R. mild und nicht selten ohne auffällige Symptomatik. Inwieweit diese relative Infektionsresistenz

mit einer erworbenen Immunität zusammenhängt, ist noch unklar.

Laboratoriumsdiagnose

EHEC-Erreger werden typischerweise aus Stuhlproben angezüchtet, isoliert und typisiert hinsichtlich Serovar (am häufigsten O157) und Pathovar (Stx1, Stx2, LEE-Gene, Plasmid-Gene, Stx-Produktion). Als Suchtest kann mittels Stx-spezifischer serologischer Verfahren (z.B. ELISA) oder Vero-Zell-Toxizitätstest das Shigatoxin in Stuhlaufschwemmungen oder Anreicherungskulturen nachgewiesen werden. Verdächtige Isolate sollten Speziallaboratorien zur weiteren Charakterisierung eingesandt werden (z.B. Nachweis von *stx1*- und *stx2*-Genen). Neben der Kultivierung besteht auch die Möglichkeit mittels Immunoblot oder Agglutinationsreaktionen Serumantikörper gegen das O-Antigen von EHEC-Serotypen nachzuweisen (hat sich für Infektionen mit Serovar O157 EHEC bewährt).

Therapie

Zahlreiche Beobachtungen und Studien haben gezeigt, daß eine Antibiotikatherapie von EHEC-Infektionen eher zu einer Verschlechterung (z.B. HUS) als zu einer Verbesserung des Krankheitsbildes führt. Die Therapie beschränkt sich deshalb dem Krankheitsbild angepaßt auf Flüssigkeit- und Elektrolytersatz, Dialyse zur Korrektur harnpflichtiger Substanzen und eventuell Plasmapherese.

Epidemiologie

Die EHEC-Erreger haben ihr Reservoir in Wiederkäuern und gelangen von dort in die Nahrungskette des Menschen. Inwieweit die Veränderungen der Tierhaltung (Heufütterung → Grassilage, Freilandhaltung → Massentierhaltung im Stall) und der Lebensmittelherstellung (Verarbeitung und Vertrieb pasteurisierter Milchprodukte → unpasteurisierte Milchprodukte) in den letzten Jahrzehnten zum gehäuften Auftreten von EHEC-Infektionen beigetragen haben, ist noch unklar. Neben Infektionen durch kontaminierte Nahrungsmittel spielen auch Kontaktinfektionen innerhalb von Kindergärten, Familien oder Krankenhausstationen eine wichtige Rolle für die epidemische Ausbreitung von EHEC.

Prävention

EHEC-Infektionen können durch klassische **Hygienemaßnahmen** verhindert werden:

- Einhaltung strikter Hygienerichtlinien bei der Lebensmittelherstellung (Rindfleisch, Milchprodukte)
- keine Fäkaldüngung im Salat- und Gemüseanbau
- ausreichende Erhitzung von Rindfleisch- und Milchprodukten vor dem Verzehr
- Isolierung von EHEC-infizierten Patienten
- Aufklärung über die hohe Infektiosität (< 100 Erreger) von EHEC-Patienten im Krankenpflegebereich (Händedesinfektion)
- Erfassung aller symptomatischen und asymptomatischen Ausscheider.

Eine Impfung gegen EHEC gibt es bisher nicht. Der Nachweis von EHEC-Erregern und das Krankheitsbild enteropathisches hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS) sind nach §7 bzw. nach §6 des IfSG **meldepflichtig**.

4.4.8 Enteropathogene E. coli (EPEC)

Pathogenität

Enteropathogene *E. coli* tragen wie die Pathovar EHEC die Pathogenitätsinsel LEE, die für die Adhärenz und Bürstensaumzerstörung verantwortlich ist. Allerdings binden die EPECs über gebündelte Typ IV-Fimbrien an Dünndarmepithel und nicht wie EHECs an Colonepithel. Nach der fimbriellen Adhäsion kommt es dann zur engen Bindung über Intimin und transloziertem TIR an die durch Aktinbündelung erzeugten „Podeste" der Darmepithelzellen (s. Abb. 4.15 und 4.17). Die Zerstörung der Mikrovilli kann zur funktionellen Schädigung der Enterozyten des Dünndarms führen. Darüber hinaus kontrolliert EPEC Signaltransduktionskaskaden der Enterozyten und stört so den transepithelialen Elektrolytfluß. Typische Enterotoxine wurden bei EPEC bisher nicht nachgewiesen (wichtiger Unterschied zu EHEC).

Pathogenese und Klinik

Nach Aufnahme von EPEC-Erregern (Infektionsdosis ca. 10^5 Bakterien) kann es nach einer **Inkubationszeit** von 12 Stunden bis 6 Tagen zu einer akuten Diarrhoe mit breiigen oder profus wässrigen Stühlen, Erbrechen und subfebrilen Temperaturen kommen. Besonders betroffen sind Säuglinge und Kleinkinder (1–4 Jahre), die durch die entstehende Exsikkose bei nicht adäquater Therapie und bei Mangelernährung vital gefährdet sind (Letalität: 25–50%).

Laboriumsdiagnose

Enteropathogene *E. coli* werden durch Kultivierung aus Stuhlproben mit anschließender Charakterisierung, Serotypisierung, Genotypisierung (EPEC-LEE) und Zellkulturinfektion (*F*luorescein-*A*ktin-*S*tain, FAS) nachgewiesen. Die serologische Diagnostik ist nicht möglich.

Therapie

Die Therapie beschränkt sich auf Wasser- und Elektrolytersatz und bei schweren Fällen können auch Antibiotika nach Resistenztestung eingesetzt werden.

Epidemiologie

EPEC-Epidemien werden in industrialisierten Ländern seit mehr als 40 Jahren nur noch selten registriert. Sporadische Fälle bei Touristen treten als Reisediarrhoe auf. Am häufigsten werden EPECs bei der Säuglingsenteritis (Alter <6 Monate) in Süd- und Mittelamerika sowie in Afrika nachgewiesen. Kleinkinder können häufig asymptomatische Ausscheider sein. Das einzig bekannte Reservoir für EPECs ist der Mensch.

Prävention

Enteropathogene *E. coli* werden durch Lebensmittel und zwischenmenschliche Kontakte übertragen. Erhitzen von Lebensmitteln, Händedesinfektion, Muttermilchernährung von Säuglingen gehören zu den präventiven Maßnahmen. Eine Impfung gibt es nicht. Der Nachweis von EPEC bei akuter Enteritis ist nach §7 IfSG **meldepflichtig**.

4.4.9 Enterotoxische E. coli (ETEC)

Pathogenität

Enterotoxische *E. coli* (ETEC) besitzen Plasmide, die mobile Gene (Transposons) für zwei Enterotoxine tragen: 1. Choleratoxin-ähnliche **hitzelabile Enterotoxine** (LT-Familie) und 2. **hitzestabile Enterotoxine** (ST-Familie). Das LT bindet wie das Choleratoxin an das Gangliosid GM1 der Dünndarmenterozyten und wird transloziert. Als ADP-Ribosyltransferase aktiviert LT heterotrimere G-Proteine und darüber indirekt die Adenylzyklase (Anstieg von cAMP). ST aktiviert direkt die membranständige Guanylzyklase (Anstieg von cGMP) durch Bindung an die extrazelluläre Rezeptordomäne. In beiden Fällen wird die Chloridsekretion gefördert, was im Dünndarm zu hohen Elektrolytverlusten führt (s. Abb. 4.17). ETEC binden mittels spezifischer *Colonization factors* (fimbrielle und nicht-fimbrielle Adhäsine, CFA) an Dünndarmepithel und sind nicht invasiv (vergleiche *Vibrio cholerae*).

Pathogenese und Klinik

ETEC-Erreger werden über kontaminierte Lebensmittel und Trinkwasser aufgenommen (Infektionsdosis ca. 10^5 Erreger) und kolonisieren über CFA (s.o.) die Jejunummukosa. Die Bildung von LT und ST führen zu wässrigen Cholera-ähnlichen Durchfällen, selten mit Fieber oder Erbrechen. Die **Inkubationszeit** ist kurz (6–48 Stunden), der Krankheitsverlauf meist auf wenige Tage begrenzt und für Erwachsene nicht bedrohlich. Lebensbedrohliche Infektionen kommen häufig bei Säuglingen in der Dritten Welt während der Abstillphase vor.

Laboratoriumsdiagnose

In Deutschland gehört zur Differentialdiagnostik der „Reisediarrhoe" der Nachweis von *E. coli* Pathovar ETEC. Nach Anzucht aus Stuhlproben werden *E. coli*-Isolate auf Koexpression von LT und ST mit Antiseren oder auf das Vorkommen der Gene mittels PCR getestet.

Therapie

Bei schweren Verläufen muß für ausreichenden Wasser/Elektrolytersatz gesorgt werden. Antibiotika wie Fluorchinolone können die Durchfallphase verkürzen.

Epidemiologie

ETECs kommen überwiegend in warmen Klimazonen mit schlechten hygienischen Lebensverhältnissen vor (Südostasien, Süd- und Mittel-Amerika, Afrika). Über Exkremente von ETEC-Infizierten gelangen die Erreger in die Nahrungskette (fäkal-oraler Infektionsweg).

Prävention

Klassische Hygieneregeln bei der Nahrungsaufnahme (inkl. Getränke) sollten strikt eingehalten werden. Darüber hinaus können prophylaktisch eingenommene Antibiotika (z.B. Fluorchinolone) hilfreich sein. Der Nachweis von ETEC bei einer akuten Infektion ist nach §7 IfSG **meldepflichtig**.

4.4.10 Enteroinvasive E. coli (EIEC)

Pathogenität

Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) tragen ein Shigellen-ähnliches Virulenzplasmid, das für einen Protein-Typ III-Sekretions/Translokations-Apparat und zahlreiche translozierbare Effektorproteine kodiert. Die Effektorproteine induzieren die basolaterale Aufnahme der Erreger durch Colonepithel (Makropinozytose), die Lyse der Phagosomenmembran, die ausschließlich intrazelluläre Ausbreitung mittels Aktinschweifbildung und die interzelluläre Ausbreitung (Abb. 4.17). Mit der Invasion ist die Freisetzung von IL-8 durch Darmepithel verbunden, die zur Infiltration der Mukosa durch polymorphkernige Neutrophile mit anschließender Mukosaschädigung führt. Darüber hinaus ist das Virulenzplasmid Träger eines neuartigen Enterotoxins (Shigella-Enterotoxin, Sen), das für die Elektrolytresorptionsstörungen mitverantwortlich sein soll. Wie Shigellen können auch EIECs die Aminosäure Lysin nicht decarboxylieren (LDC-negativ) und damit kein Cadaverin (Diamin) produzieren (im Gegensatz zu der Mehrzahl von *E. coli)*. Dieser LDC-Defekt ist für die Pathogenität von Bedeutung, weil Cadaverin das Enterotoxin Sen inhibiert.

Pathogenese und Klinik

EIEC-Infektionen verlaufen in der Regel milder als die Shigellen-Dysenterie. Nach kurzer Inkubationszeit (2–4 Tage) entwickeln die Patienten einen wässrigen Durchfall, der selten in eine Dysenterie übergeht. Eine EIEC-Infektion kann bei fehlender Dysenterie klinisch kaum von einer ETEC-Infektion abgegrenzt werden. Die Infektion heilt häufig nach wenigen Tagen aus. Aufgrund der fehlenden Säureresistenz von EIEC im Vergleich zu Shigellen, ist die Infektionsdosis relativ hoch und die Infektiosität entsprechend geringer als bei Shigellen.

Laboratoriumsdiagnose

EIEC-Infektionen werden durch Anzucht der Erreger aus Stuhlproben nachgewiesen. Verdächtige Isolate (z.B. LDC-negative *E. coli*, EIEC-Serovarietäten, s. Tab. 4.11) müssen hinsichtlich der Virulenzgene typisiert werden (PCR).

Therapie

Epidemiologie

Wie Shigellen, so kommen auch EIECs nur beim Menschen vor. Besonders häufig ist das EIEC-Vorkommen in warmen Ländern, insbesondere Südamerika. In Europa gehören EIEC zu den importierten Erregern (Reisediarrhoe). EIEC-Infektion werden durch kontaminierte Lebensmittel und Trinkwasser verursacht.

Prävention

Einen EIEC-Impfstoff gibt es nicht. Die üblichen Hygienemaßnahmen für Aufenthalte in tropischen Ländern bei der Nahrungsaufnahme sollten eingehalten werden. Eine Antibiotikaprophylaxe für Kurzaufenthalte in Endemiegebieten ist zwar wirksam (z.B. Fluor-Chinolone), wird aber nicht allgemein empfohlen.

4.4.11 Enteroaggregative E. coli (EAEC)

Pathogenität

Die Bezeichnung enteroaggregative *E. coli* (Pathovar EAEC) beruht auf der Beobachtung, daß EAECs an HEp-2 Zellkulturen binden und dabei dicht gepackte flächige Aggregate bilden. Für diese „aggregative Adhärenz“ sind zwei Fimbrien-Typen verantwortlich (*ag*gregative *A*dhärenz*f*imbrien, AAF I und II), die von einem Virulenzplasmid kodiert werden. Das Virulenzplasmid trägt häufig auch noch Gene für ein hitzestabiles Enterotoxin (EAST), ein Zytotoxin (Pet) und eine sezernierte Protease. EAST kommt bei 70% der EAEC aber auch bei EHECs vor. Der Beitrag dieser Toxine zur Pathogenität ist noch unklar.

Pathogenese und Klinik

Tierversuche und Infektionen von Freiwilligen haben ergeben, daß EAECs die Dünndarmzotten in Form eines Biofilms besiedeln. Offensichtlich sind sie auch befähigt, eine Mucusschicht zu induzieren, in der sie eingebettet sind (Abb. 4.17). Diese dichte oberflächliche Kolonisierung der Zotten kann stellenweise zu hämorrhagischen Nekrosen führen. EAEC-Infektionen führen besonders bei kleinen Kindern unter

charidkapsel u.a. (Tab. 4.14). Mit dieser Ausstattung können sie nur vorgeschädigte, insbesondere hospitalisierte Patienten infizieren (nosokomiale Infektion, NI). Die häufigsten NIs sind Harnwegsinfektionen, Pneumonien, postoperative Wundinfektionen und Septikämien, die durch endogene Infektionen (ausgehend vom Darm oder Nasopharynx) und seltener exogen durch Übertragung von Pflegepersonal verursacht werden. Neben NIs verursachen die fakultativ-pathogenen Enterobacteriazeen auch im ambulanten Bereich Harnwegsinfektionen, Wundinfektionen, Osteomyelitiden, Septikämien (bei Drogensüchtigen etc.). Auf Neugeborenenstationen können sie als Meningitiserreger bei Frühgeborenen auftreten.

Zu den **Risikofaktoren** für Infektionen mit fakultativ-pathogenen Enterobacteriazeen zählen:

- Häufige und großzügige Antibiotikagabe (Schädigung der protektiven autochthonen Flora und Selektion von multiresistenten Enterobacteriazeen)
- Fremdkörperimplantation (Katheter, endotrachealer Tubus bei künstlicher Beatmung u.a.)
- Abwehrschwäche durch Neoplasien, Immunsuppressionstherapie, Polytrauma, Diabetes mellitus, Leberzirrhose, Drogensucht oder bei Abwehrschwäche durch Neoplasien oder Drogensucht oder bei Frühgeborenen und hohen Alter
- lange Liegezeiten auf Intensivstationen
- mangelhafte Krankenhaushygiene.

Gefürchtet sind Epidemien im Krankenhaus durch multiresistente Enterobacteriazeen (z.B. *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*), die meist durch Pflegepersonal auf Patienten übertragen werden. Solche Hospitalepidemien können am effektivsten durch Schließung der betroffenen Station und „Sanierung" des Pflege-

personals beherrscht werden. Auch kontaminierte Infusionslösungen, Heparinspritzen, Spülflüssigkeit etc. können die Ursache von NIs mit Enterobacteriazeen sein.In Tab. 4.14 sind wichtige Merkmale der medizinisch bedeutsamen Gattungen/Arten der fakultativ-pathogenen Enterobacteriazeen zusammengestellt. Die Serotypisierung nach O-. H-, K- und F-Antigenen wurde als nützlich angesehen bei der Analyse von Epidemien und Pathogenität, hat sich aber letztlich nicht durchgesetzt.

Citrobacter

Zur Gattung *Citrobacter* (Citrat-Verwerter) gehören inzwischen 8 Arten, von denen *C. freundii* und *C. koseri* (früher *C. diversus*) als extraintestinale (NI, Harnwegsinfektionen) und intestinale Infektionserreger medizinisch bedeutsam sind. Einige *C. freundii* Stämme produzieren ein Kapselpolysaccharid, das identisch zum Vi-Antigen von *Salmonella* Typhi ist und andere produzieren Shigatoxin und sind enteropathogen wie *E. coli* Pathovar EHEC. *C. koseri* verursacht Harnwegsinfektionen, Septikämien, Meningitis bei Neugeborenen u.a.

Enterobacter

Zur Gattung *Enterobacter* gehören über 12 Arten. Medizinisch bedeutsam sind *E. aerogenes* und *E. cloacae*. Die früher als *E. agglomerans* bezeichnete Art wurde kürzlich der Gattung *Pantoea* zugeordnet und wird als *P. agglomerans* bezeichnet (bildet gelb-pigmentierte Kolonien, wächst schlecht auf McConkey-Agar). *Enterobacter*-Arten sind in der Umwelt weit verbreitet. Isolate aus Patientenmaterial zeichnen sich häufig durch multiple Antibiotikaresistenzen aus. In Intensivstationen sind 5–10% der Bakterieniso-

tung als Erreger nosokomialen Infektionen (insbesondere **Pneumonien** und **Harnwegsinfektionen**) zukommt. *K. pneumoniae* ssp. *rhinoscleromatis* ist der Erreger des **Rhinoskleroms** (chronische granulomatöse Entzündung der Nase) und *K. pneumoniae* ssp. *ozaenae* soll ursächlich an der **Rhinitis atrophicans cum foetore** (Stinknase) beteiligt sein, was aber nicht bewiesen ist. Mikrobiologische Besonderheiten von Klebsiellen sind das Fehlen von Flagellen (unbeweglich) und die nicht übersehbare Polysaccharidschleimkapsel (schleimige Kolonie), die bei *K. pneumoniae* für die Phagozytoseresistenz und Serumresistenz verantwortlich ist. Die Kapseltypisierung hat für *K. pneumoniae* ssp. *pneumoniae* epidemiologische Bedeutung (K1-Stämme sind häufig an HWI beteiligt). Im Krankenhaus können bei Pflegepersonal in 70–80% der Stuhlproben und 40% der Handflächenabstriche *K. pneumoniae* nachgewiesen werden. Damit ist das Pflegepersonal ein wichtiges Keimreservoir für nosokomiale Infektionen.
Therapeutisch kann *K. pneumoniae* problematisch sein, da die Stämme häufig Multiresistenzplasmide erworben haben mit Betalaktamasen gegen Drittgenerationscephalosporine.

Serratia

Von den mehr als zehn Arten der Gattung *Serratia* spielen *S. liquefaciens* und insbesondere *S. marcescens* eine Rolle bei nosokomialen Infektionen. *S. marcescens* kann auf kohlenhydratreichen Oberflächen Bluttropfen-ähnliche Kolonien bilden (Hostienwunder, „blutende Polenta" etc.), was auf die Produktion des roten Pigments Prodigiosin zurückzuführen ist. Als Pathogenitätsfaktor wird ein zellgebundenes Hämolysin bewertet, das bei einigen Stämmen vorkommt. Wie Klebsiellen und *Enterobacter*-

Epidemiologie

Die fakultativ-pathogenen Enterobacteriazeen kommen ubiquitär vor. Krankenhausepidemien insbesondere durch *Enterobacter aerogenes* und *Klebsiella pneumoniae* sind schwer zu beherrschen und häufig ein Hinweis auf irrationalen Antibiotikaeinsatz und ungenügende krankenhaushygienische Zustände.

Katzen und Hunden werden Plesiomonaden nachgewiesen. In den warmen Jahreszeiten sind die Plesiomonaden-Konzentrationen am höchsten und damit auch das Infektionsrisiko.

Pathogenese, Klinik und Epidemiologie

Plesiomonaden-Infektionen entstehen durch den Verzehr von kontaminierten rohen oder un-

HEJAZI, A., and F. R. FALKINER: *Serratia marcescens*. J. Med. Microbiol. **46** (1997) 903–912

JOHNSON, J. R.: Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. Clin. Microbiol. Rev. **4** (1991) 80–128

KINGSLEY, R. A., and A. J. BÄUMLER: Host adaption and the emergence of infectious disease: the *Salmonella* paradigm. Mol. Microbiol. **36** (2000) 1006–1014

MARCUS, S. L., J. H. BRUMELL, C. G. PFEIFER and B. B. FINLAY: *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. Microb. and Infect. **2** (2000) 145–156

NATARO, J. P., and J. B. KAPER: Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. **11** (1998) 142–201

OLD, D. C.: Nomenclature of *Salmonella*. J. Med. Microbiol. **37** (1992) 361–363

PODSCHUN, R., and U. ULLMANN: *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenicity factors. Clin. Microbiol. Rev. **11** (1998) 589–603

ROOT, R. K.: Clinical Infectious Diseases. Oxford Univ. Press, New York, Oxford 1999

ROZALSKI, A., Z. SIDORCZYK and K. KOTELKO: Potential virulence of *Proteus* bacilli. Microbiol. Mol. Biol. Rev. **61** (1997) 65–89

SANDERS JR., W. E., and C. C. SANDERS: *Enterobacter* spp.: Pathogens poised to flourish at the turn of the centura. Clin. Microbiol. Rev. **10** (1997) 220–241

TRAN VAN NHIEU, G., and P. J. SANSONETTI: Mechanism of *Shigella* entry into epithelial cells. Curr. Opinion Microbiol. **2** (1999) 51–55

WONG, C. S., S. JELACIC, R. L. HABEEB, S. L. WATKINS and P. I. TARR: The risc of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. N. Engl. J. Med. **342** (2000) 1930–1936.

4.5 Die Gattung Yersinia, Yersiniosen

JÜRGEN HEESEMANN

4.5.1 Überblick und Systematik

Yersinien sind gram-negative Stäbchenbakterien, die seit 1964 der Familie *Enterobacteriaceae* zugeordnet werden. Die inzwischen elf Arten umfassende Gattung *Yersinia* trägt den Namen zu Ehren des Entdeckers des Pesterregers, ALEXANDRE YERSIN (Hongkong-Pest, 1894). Yersinien sind hinsichtlich biochemischer, mikrobiologischer und pathogenetischer Eigenschaften ungewöhnlich heterogen, was ihre taxonomische Zuordnung erschwert. Von den elf bekannten Arten sind *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica* humanpathogen. *Y. pestis* wird typischerweise durch den Biß von Flöhen, die mit *Y. pestis* kolonisiert sind, übertragen und verursacht die als **Pest** bekannten, akuten, häufig fulminant verlaufenden Infektionen (Letalität 30–60%). Dagegen werden *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica* durch kontaminierte Nahrungsmittel aufgenommen und verursachen akute intestinale Infektionen mit in der Regel benignem Ausgang (sog. **Yersiniose**). Die Pathogenität dieser drei *Yersinia*-Arten wird von einem 70-Kilobasen (kb) großen Virulenzplasmid (pYV) determiniert. Yersinien, die kein pYV tragen, gelten als apathogen. Die übrigen *Yersinia*-Arten sind in der Umwelt weit verbreitet. Nicht selten werden sie aus Stuhlproben von Mensch und Tier isoliert, ohne pathogene Bedeutung zu haben.

Neben den für Warmblüter pathogenen Arten gibt es auch eine fischpathogene Art: *Y. ruckeri*. Dieser Erreger verursacht die Rotmaulerkrankung bei Lachsen und Forellen. Aufgrund der häufig fulminant hämorrhagischen Verläufe entstehen große Verluste in Fischfarmen.

Die medizinische Bedeutung der humanpathogenen Yersinien hat sich mit Beginn des 20. Jahrhunderts stark gewandelt. So spielt der Pesterreger, der in Asien, Europa und Afrika über 2000 Jahre lang verheerende Pandemien mit 50%-Dezimierung der Bevölkerung verursacht hatte, heute in Europa als Seuchenerreger keine Rolle mehr. Dagegen haben die enteropathogenen Yersinien insbesondere in Europa seit 1950 an medizinischer Bedeutung gewonnen. Nach Salmonellen und *Campylobacter jejuni* gehören sie zu den dritthäufigsten bakteriellen Enteritiserregern.
Wie für Enterobacteriazeen typisch, können auch Yersinien aufgrund ihrer biochemischen Leistungen („Bunte Reihe“) charakterisiert und nach Arten differenziert werden. Die humanpathogenen Yersinien werden weiter subtypisiert nach Biotypen/Biovare und Serotypen/Serovare. Die Heterogenität und teilweise schlechte Reproduzierbarkeit der biochemischen Leistungen hat viele Jahre Schwierigkeiten bei der taxonomischen Zuordnung das Genus *Yersinia* bereitet. Mit der genomischen Charakterisierung der Enterobacteriazeen konnte schließlich auch ein Stammbaum für den Genus *Yersinia* erstellt werden. In Abb. 4.18 ist ein Dendrogramm dargestellt, das sich aus dem Homologiegrad der 16S-r-RNA (bzw. r-DNA)-Sequenzen ergibt.

Drei Besonderheiten fallen auf:
- *Y. pestis* und *Y. pseudotuberculosis* haben identische 16S rDNA Sequenzen und müßten daher einer Art

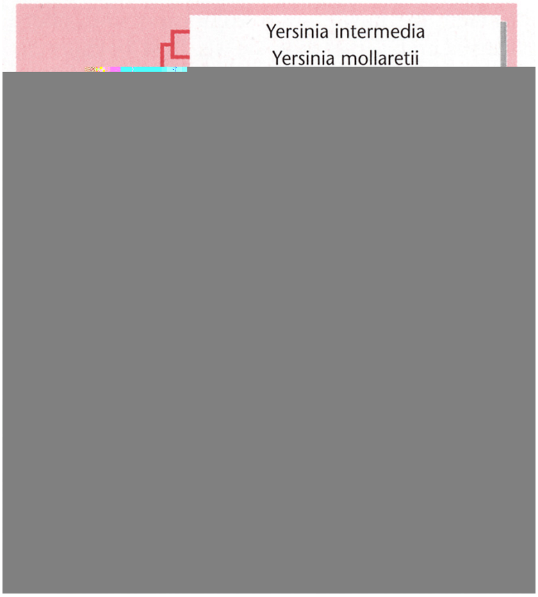


Abb. 4.18 Dendrogramm des Genus *Yersinia* errechnet aus der Sequenzverwandtschaft der 16-S rDNA. Die phylogenetische Distanz 0.05 ist als Einheit dargestellt.

zugeordnet werden (z.B. *Y. pseudotuberculosis*, Subspecies *pseudotuberculosis* und Subspecies *pestis*). Darüber hinaus zeigen Homologievergleiche mit anderen konservierten Genen, daß *Y. pestis* aus *Y. pseudotuberculosis* hervorgegangen ist.

- *Y. enterocolitica* kann in zwei Gruppen aufgetrennt werden: Die Biovar 1B-Gruppe kommt praktisch nur in Nordamerika vor („Neuwelt-Yersinien") und hat sich wahrscheinlich sehr früh von der übrigen Biovar 1A, 2–4-Gruppe („Altwelt-Yersinien") getrennt entwickelt.
- Der nächste Verwandte zu der hochpathogenen *Y. pestis/Y. pseudotuberculosis*-Gruppe ist *Y. frederiksenii*, ein harmloser Umweltkeim.

Damit wird deutlich, daß phylogenetische Marker mit hochkonservierten Sequenzen (wie 16S rDNA u.a.) die taxonomische Eingruppierung der Mikroorganismen in ein allgemeingültiges System ermöglichen, dagegen aber keine Aussagen zur Pathogenität einer Bakterienart zulassen.

4.5.2 Pathogentitätsprinzip

Das Pathogenitätsprinzip von Yersinien ist ein Paradigma für extrazelluläre Erreger. Die Pathogenität wird von mobilen genetischen Elementen determiniert, die chromosomal und extrachromosomal lokalisiert sind (Pathogenitätsinsel und Plasmide). *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* und die humanpathogenen *Y. enterocolitica* Biovare 1B und 2–5 sind Träger eines gemeinsamen Virulenzplasmids von 70 kb (pYV, Abb. 4.19). Etwa 50% der genetischen Information des pYV dient dem Aufbau eines Typ III-Protein-Sekretions/Translokations-Systems. Typ III-Systeme werden von zahlreichen pflanzen- und tierpathogenen gram-negativen Bakterien (z.B. Salmonellen, Shigellen, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp.) genutzt, um Pathogenitätsfaktoren in Wirtszellen zu „injizieren". Bei diesen Pathogenitätsfaktoren handelt es sich in der Regel um Effektorproteine, die modulierend (aktivierend oder inaktivierend) auf Signaltransduktionskaskaden , Zytoskelettumlagerungen und Regulation von Genen der Wirtszelle einwirken (sog. Moduline). Da der Bakterien-Zellkontakt das Typ III-System aktiviert bzw. den Transportkanal öffnet, spricht man auch von polarisierter Protein-Translokation (Abb. 4.20). Als weitere Besonderheit bietet das Typ III-System der Bakterienzelle die Möglichkeit, Effektorproteine mit Chaperonen (Stabilisatorproteine) zu stabilisieren und im Zytoplasma zu speichern, um sie dann nach Kontakt mit z.B. Makrophagen blitzschnell zu injizieren. Die Typ III-Systeme der gram-negativen Bakterien ähneln sich in der Genorganisation und -sequenz und haben sich wahrscheinlich aus den Genen der Flagellen-Basalkörper entwickelt.

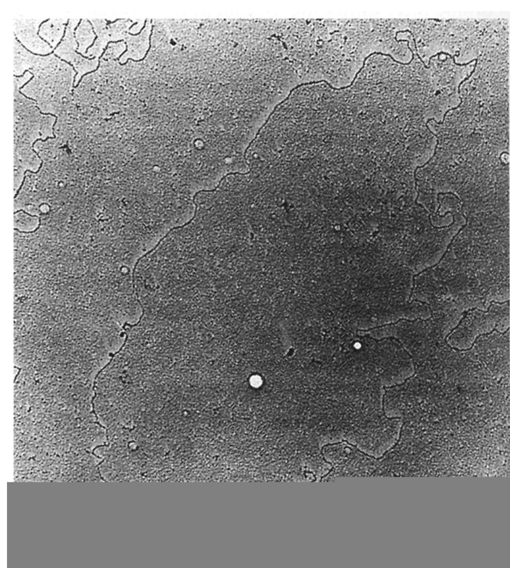


Abb. 4.19 Elektronenoptische Darstellung des Virulenzplasmids von *Y. enterocolitica*, Serotyp O3 (8000x, Länge ca. 23 µm).

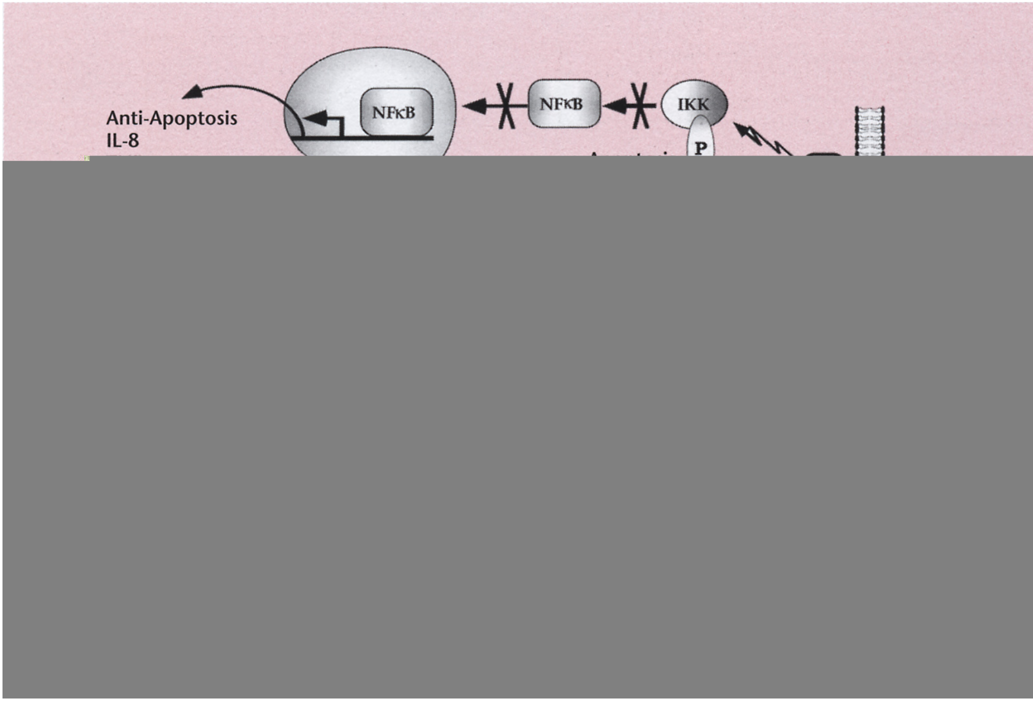


Abb. 4.20 Interaktion von *Yersinia enterocolitica* mit einem Makrophagen (schematisch). Die Adhärenz wird über das Invasin/β1 Integrin und über YadA mit unbekanntem Rezeptor dargestellt. Der Typ III-Sekretions-/Translokationsapparat bildet wahrscheinlich eine durchgängige „Röhre" zwischen bakteriellem und zellulärem Zytoplasma. Die Effektorproteine (Yop E, H, M, O, P und T) werden in die Wirtszelle transloziert und inhibieren die Bildung von Streßfasern (RhoA) und Lamellopodien (Rac), sowie die Signaltransduktionskaskade von Integrinen zu Transkriptionsfaktoren (NF κ-B). Weitere Erläuterungen im Text.

Trotz dieser Gemeinsamkeiten im Typ III-Sekretionsapparat unterscheiden sich die verschiedenen Erreger durch ihr Repertoire an Effektorproteinen und damit auch hinsichtlich ihres Pathomechanismus.

Welche Funktionen sollten Effektorproteine erfüllen, damit die Strategie eines extrazellulären Erregers Erfolg haben kann? In Abb. 4.20 sind Signaltransduktionswege und zelluläre Reaktionen dargestellt, die durch Yersinia-Kontakt moduliert werden. Zum angeborenen Immunsystem gehört ein Frühwarnsystem, das mikrobielle Zucker- und Peptidmuster **(„pathogen recognition pattern")** über Membranrezeptoren von z.B. Makrophagen erkennt und in Signale für Zellreaktionen (z.B. Zytokinproduktion, Ausschüttung

4.15). Signale, die zur Aktivierung von NF κ-B (*n*ukleärer *F*aktor, aktiviert als Transkriptionsfaktor zahlreiche Zytokin- und Antikörpergene und inhibiert den programmierten Zelltod/Apoptose) führen, werden durch YopP blockiert. Phagozytose und ROI-Bildung werden durch kleine GTP-bindende Proteine (Rho und Rac) reguliert. Die Effektorproteine YopE und YopT inaktivieren Rac bzw. Rho. Zusammenfassend führt die Translokation der Yops zur Zellparalyse und ggf. zum programmierten Zelltod, wodurch den Yersinien die extrazelluläre Lokalisation ermöglicht wird.

Neben den Yops produzieren die enteropathogenen Yersinien ein plasmidkodiertes äußeres Membranprotein, das oligomere Fibrillen mit Köpfchenstrukturen bildet (sog. „lollipops"). Dieses Membranprotein hat Zelladhäsinfunktion (*Y*ersinia *A*dhäsin, YadA), es

4

hält das LPS von *Y. pestis* nur das Kerngerüst und kann nicht nach O-Serovarietäten differenziert werden. Stattdessen können drei Biovarietäten unterschieden werden, die von großer epidemiologischer Bedeutung sind. Von den zwei Substraten Glycerin und Nitrat kann die Biovar „antiqua“ beide Substrate, die Biovar „mediaevalis“ nur Glycerin und die Biovar „orientalis“ nur Nitrat umsetzen. Subkultivierungen bei 37 °C können schnell zum Verlust der Pathogenität (Verlust des Virulenzplasmids pYV) führen. Auf festen Nährmedien mit geringer Calciumionenkonzentration (Calciumpräzipitation mit Natriumoxalat) und hoher Magnesiumionenkonzentration (20 mM) wachsen pathogene Yersinien extrem langsam (kaum sichtbare

gen dieser Art führen innerhalb von 2–5 Tagen zur letal verlaufenden Lungenpest.

Klinik

Die häufigste Form der Pesterkrankung (80–90% der Fälle), ist die **Beulenpest** (Bubonenpest). Besonders betroffen sind beim Erwachsenen inguinale, gefolgt von axillaren Lymphknoten, während Kleinkinder häufiger eine zervikale Lymphadenopathie entwickeln (Abb. 4.21). Bereits zwei Tage (in der Regel 5–7 Tage) nach Infektion durch einen Flohstich können uncharakteristische Krankheitssymptome wie Fieber, Übelkeit, Durchfall, Kopfschmerzen und Schwindel auftreten. Typisch für die Beulenpest



Tab. 4.16 Gemeldete Fälle an Pestkranken und -toten 1980–1994 WHO, 1996)

Kontinent	Erkrankte	Tote
Afrika	**10155**	**1344**
Madagaskar	1390	302
Tansania	4964	419
Zaire	2242	531
Amerika	**2923**	**184**
Brasilien	700	9
Peru	1722	112
USA	229	33
Asien	**5661**	**325**
Indien	876	54
Myanmar	1160	14
Vietnam	3304	158
Total	**18739**	**1853**

4.5.4 Enteropathogene Yersinien, Y. pseudotuberculosis und Y. enterocolitica

Geschichte

MALASSEZ und VIGNAL beschrieben 1883 eine tuber-

zu einer weiteren Aufspaltung in bis heute 11 Arten des Genus *Yersinia* (s. Abb. 4.18).

Eigenschaften

Wie *Y. pestis* sind auch *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica* **gram-negative**, sporenlose, nicht selten kokkoide Stäbchenbakterien, die **aerob** und **fakultativ anaerob** wachsen sowie Zytochromoxidase negativ und Katalase positiv sind. Im Unterschied zu *Y. pestis* sind die enteropathogenen Yersinien mono- bis peritrich begeißelt und beweglich.Die Beweglichkeit wird optimal bei Wachstumstemperaturen von 22–28 °C ausgebildet, jedoch nicht bei 37 °C, und wird daher als Differenzierungsmerkmal verwendet (Tab. 4.17). Für die Testung biochemischer Aktivitäten mit kommerziellen Testsystemen sollten Temperaturen um 28 °C gewählt werden, um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen. Yersinien sind psychrophil (kälteliebend),d.h. sie können sich noch bei Temperaturen zwischen 0–4 °C vermehren, was bei der Erregerisolierung aus Patientenmaterial durch Kälteanreicherung genutzt wird (s.u.). Die enteropathogenen Yersinien haben unterschiedliche Eisenversorgungssysteme. Alle human-

Tab. 4.17 Wichtige biochemische Differenzierungsmerkmale der verschiedenen *Yersinia*-Arten

Art	Beweglichkeit bei 28°C	Ornithin	Saccharose	Äskulin	Melibiose	Calcium-abhängiges Wachstum, 37 °C
Humanpathogene Yersinien						
Y. pestis	–	–	–	–	–/+	+
Y. pseudotuberculosis	+	–	–	+	+	+
Y. enterocolitica Biovar 1B–5	+	+	+	–	–	+
Nicht-humanpathogene Yersinien						
Y. enterocolitica Biovar 1A	+	+	+	+	–	–
Y. intermedia	+	+	+	+	+	–
Y. frederiksenii	+	+	+	+	–	–
Y. kristensenii	+	+	–	–	–	–

+ = vorhanden bzw. Spaltung von; – fehlt bzw. keine Spaltung von; –/+ = wechselndes Verhalten

Reaktive Arthritis	Urticaria
Morbus Reiter	Sweet-syndrom
Arthralgien, Myalgien	Fernöstliches scharlachähnliches Fieber
Erythema nodosum	Kawasaki-ähnliches Syndrom
Uveitis anterior	Guillain-Barré-Syndrom

Tab. 4.19 Yersiniose-Begleit- und Folgeerkrankungen

schen, konnte gezeigt werden, daß die enteropathogenen Yersinien zunächst in das darmassoziierte lymphatische Gewebe (vorwiegend in die Peyer-Plaques des terminalen Ileums) eindringen, sich dort vermehren und Abszesse bilden. Dann brechen sie einerseits in das Darmlumen ein, andererseits breiten sie sich über die abfließenden Lymphgefäße in die mesenterialen Lymphknoten aus. Nachfolgend werden wahrscheinlich luminal wie auch retrograd weitere Darmabschnitte durch *Y. enterocolitica* befallen und geschädigt, wodurch die endoskopisch und histologisch beobachteten oberflächlichen aphthoiden Ulzerationen des Ileums und Kolons bei Yersiniose-Patienten zu erklären sind.

Die *Y. pseudotuberculosis*-Infektion beschränkt sich dagegen vorwiegend auf das lymphatische Gewebe des terminalen Ileums und die mesenterialen Lymphknoten. Histologisch manifestiert sich diese Yersiniose als **retikulozytär abszedierende Lymphadenitis** (Masshoff) oder als unspezifische mesenteriale Lymphadenitis. In der Regel bleibt die *Yersinia pseudotuberculosis*-Infektion auf den mesenterialen Bereich begrenzt.

Bei schweren Grunderkrankungen wie Leukämie, hämolytische Anämie (Thalassämie u.a.) [illegible]

spender) zu symptomfreien, transitorischen Bakteriämien führen können.

Klinik

Yersinia pseudotuberculosis- und *Y. enterocolitica*-Infektionen (Yersiniosen) können ein breites Spektrum von klinischen Syndromen verursachen, die vom Alter, Abwehrzustand, Histokompatibilitätstyp (HLA-System) und Geschlecht des Patienten abhängen.

Säuglinge und **Kleinkinder** reagieren auf eine *Y. enterocolitica*-Infektion in der Regel mit einer selbstlimitierenden (1–2 Wochen dauernden) akuten Gastroenteritis (Fieber, wäßriger bis blutiger Durchfall, Erbrechen u.a.). Die Erregerisolierfrequenz aus Stuhlproben ist bei dieser Altersgruppe am höchsten.

Yersinia pseudotuberculosis- und *Y. enterocolitica*-Infektionen manifestieren sich bei Schulkindern und **Jugendlichen** meistens als akute mesenteriale Lymphadenitis (Ileozökalwinkel) mit Fieber (> 38 °C), abdominalen Schmerzen im rechten unteren Quadranten („Pseudoappendizitis“) und seltener mit Durchfällen (10–20% bei *Y. pseudotuberculosis*). Auch diese Erkran- [illegible]

4



Die europäischen Serovarietäten O3, O9 und O5,27 von *Y. enterocolitica* können aufgrund ihrer geringeren Tiervirulenz (HPI-negativ) bei den meisten Nagetieren keine persistierenden Infektionen verursachen. Nagetiere spielen deshalb für diese Erreger allenfalls eine untergeordnete Rolle als natürliches Reservoir.

Zahlreiche epidemiologische Untersuchungsergebnisse sprechen dafür, daß Wild- und Schlachtschweine die Hauptkeimreservoire für die weniger virulenten, humanpathogenen *Y. enterocolitica*-Serovarietäten sind (Abb. 4.26). Die Infektion beim Menschen erfolgt oral-alimentär wahrscheinlich über rohes Schweinefleisch, kontaminierte Milchprodukte, Salat (Fäkaliendüngung) und durch den Kontakt mit infektiösen Haustieren (Ratte, Hund, Katze).

Auffällig ist die Häufung der Yersiniosen in der

typisierung durchgeführt werden (Einsendung an Fachinstitute).

Literatur

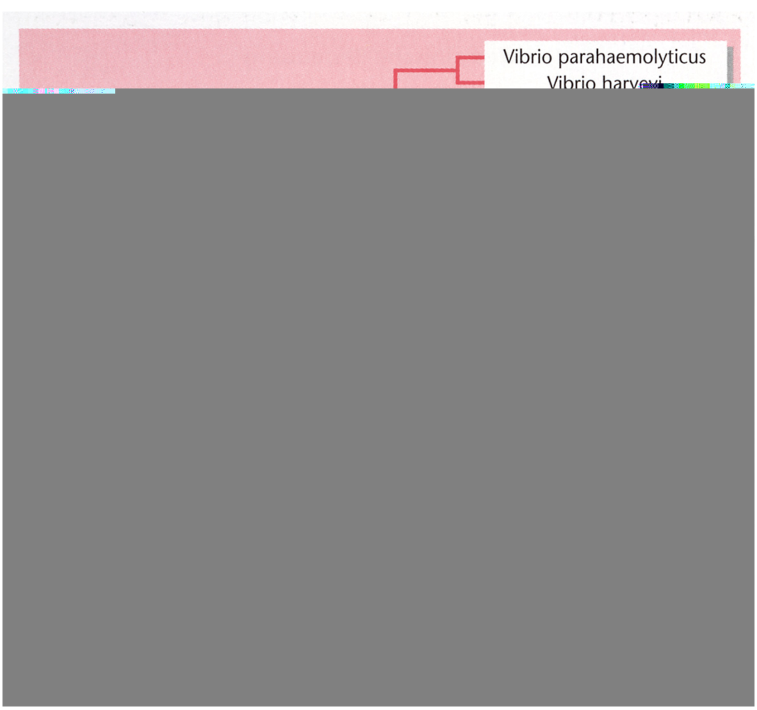
Knapp, W., und A. Weber: Zur epidemiologischen und seuchenhygienischen Bedeutung von Yersinia pestis und Yersinia enterocolitica. Öff. Gesundh.-Wesen **44** (1982) 552–556

Butler, Th.: Plague and other Yersinia infections. Plenum Press, New York 1985.

Cover, T. L., and R. C. Aber: Yersinia enterocolitica. N. Engl. J. Med. **521** (1989) 16–24

Stählberg, T. H., J. Heesemann, K. Granfors and A. Toivanen: Immunoblot analysis of human IgM, IgG and IgA responses to plasmid-encoded released proteines of Yersinia enterocolitica O:3: A study on patients with or without Yersinia-triggered reactive arthritis. Ann. Rheum. Dis. **48** (1989) 577–581

4



Neuordnung nach phylogenetischen Gesichtspunkten erfährt.
In diesem Kapitel werden die medizinisch wichtigsten Arten der Gattung *Vibrio* und der Gattung *Aeromonas* besprochen. *Plesiomonas*-Arten siehe Kapitel 4.4 *Enterobacteriaceae*.

4.6.1 Die Gattung Vibrio

Morphologie und physiologische Eigenschaften

Der Gattung *Vibrio* werden inzwischen über 30 Arten zugeordnet. Neben *Vibrio cholerae* haben 12 weitere Arten medizinische Bedeutung als Erreger von Gastroenteritiden, Wundinfektionen oder Septikämien. Mikroskopisch stellen Vibrionen sich als gekrümmte Stäbchen („Kommabakterien", Größe 0,5–0,8 µm → 1,5–2,5 µm) dar. Je nach Wachstumsbedingung können sie auch längliche oder kokkoide Stäbchen bilden (Pleomorphismus) und damit z.B. von Enterobakteriazeen nicht unterschieden werden. In Flüssigmedien zeigen sie eine intensive „vibrierende" Beweglichkeit, die auf die monotriche (selten lophotriche) Begeißelung zurückzuführen ist. Die polare Geißel ist in der Regel von Komponenten der äußeren Membran ummantelt (Flagellenscheide). Vibrionen bilden diverse Fimbrientypen aus und können von einer Polysaccharidkapsel umgeben sein. Die Zellhülle zeigt den typischen Aufbau von gram-negativen Bakterien (innere Membran, Peptidoglykanzellwand, äußere Membran) und enthält u.a. charakteristische Lipopolysaccharide, die zur O-Antigentypisierung dienen können (s. u.).
Vibrionen wachsen **fakultativ anaerob.** Sie tolerieren einen breiten Wachstumstemperaturbereich (10°–44 °C). Glukose reicht als einzige Kohlenstoffquelle zur Vermehrung aus. Bemerkenswert ist das halophile Verhalten (bis 600 mM/3,5% NaCl) der meisten Vibrionen: Kochsalz wirkt nicht nur wachstumsfördernd, sondern ist für die Vermehrung der **halophilen Vibrionen** notwendig (z.B. 1% NaCl-Zusatz zum Nährmedium führt zur Induktion von Aminosäure- und Zuckertransport). Interessanterweise wachsen *V. cholerae* und *V. mimicus* auch ohne Kochsalz-Zusatz **(nicht-halophile Vibrionen),** was eine praktische Bedeutung für die Vibrionen-Differenzierung hat. Eine weitere Besonderheit ist die Toleranz alkalischer pH-Werte (bis zu pH 9). Vibrionen sind wie Aeromonaden, Plesiomonaden und Pseudomonaden Cytochromoxidase-positiv. Schlüsselreaktionen zur Differenzierung der Vibrionen und Abgrenzung zu anderen phänotypisch ähnlichen Bakterienarten sind in Tab. 4.20 dargestellt. Die genaue Differenzierung der Vibrionen-Arten erfolgt über übliche biochemische Reihen, wobei die Testmedien 0,5–1% NaCl enthalten sollten, um das Wachstum bzw. den Metabolismus zu fördern. *Vibrio cholerae*-Isolate müssen hinsichtlich ihres O-Antigens serotypisiert werden (inzwischen wurden 154 Serogruppen beschrieben). Von Bedeutung ist zunächst, ob es sich um Isolate der Serovare O1 oder O139 (typische Choleraepidemieerreger) oder um andere Serovare handelt, die bisher als Choleraerreger im strengen Sinne nicht aufgetreten sind.

Medizinische Bedeutung

Vibrionen können hinsichtlich ihrer medizinischen Bedeutung in drei Gruppen unterteilt werden:
- Choleraerreger
  - *Vibrio cholerae*, Serovare O1 und O139
- Gastroenteritiserreger
  - V. cholerae/non-O1/O139
  - V. mimicus
  - V. parahaemolyticus

Tab. 4.20 Charakteristische Merkmale zur Differenzierung von *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* und *Enterobacteriaceae*

Merkmal	*Vibrio* *Nicht-halophil*	*Vibrio* *halophil*	*Aeromonas*	*Plesiomonas*	Enterobacteriaceae
Oxidase	+	+	+	+	–
NaCl-Zusatz zum Nährmedium					
0%	+	–	+	+	+
6%	+	+	–	–	–

– V. fluvialis

früchten erworben werden. Die hierbei auftre-

Tab. 4.21 Cholera-Pandemien (nach R. POLLITZER, WHO)

No.	Zeit	Ursprung	Erregertyp Serovar/Biovar	Ausbreitung Asien	Europa	Afrika	Amerika
1.	1817–1823	Indien	?	+	–	+	–
2.	1829–1851	Indien	?	+	+	+	+
3.	1852–1859	Indien	?	+	+	+	+
4.	1863–1879	Indien	?	+	+	+	+
5.	1881–1896	Indien	O1, cholerae	+	+	+	+
6.	1899–1923	Indien	O1, cholerae	+	+	+	–
7.	1961–	Indonesien	O1, eltor	+	–	+	+
8.(?)	1992–	Indien	O139, (eltor)	+	–	–	–

ger zu bewerten ist. Um so überraschender war das Auftauchen eines **neuen Choleraerregers, V. cholerae Serovar O139** im Jahre 1992 in Indien, der sich seitdem über Südostasien ausbreitet (wahrscheinlich eine Variante des Pandemie-Stamms Biovar eltor).

Die Cholera hat in Deutschland wie kaum eine andere Seuche zu großen Veränderungen in der Gesundheitspolitik geführt. MAX VON PETTENKOFER hat durch seine Aktivitäten hinsichtlich der Erneuerung des Trinkwassersystems und der Einführung der Abwasserkanalisation München vor zukünftigen Choleraepidemien bewahrt. Hamburg mußte dagegen noch 1892 eine schwere Choleraepidemie erleiden (ca. 17 000 Erkrankte und 8605 Tote), bevor auch dort die miserable Trinkwasserversorgung und Abwasserentsorgung erneuert wurden. Auf PETTENKOFERS Initiative wurde schließlich das Fach Hygiene zum Lehr- und Prüfungsfach für Mediziner.

Eigenschaften

Das Genom

Das Genom von *V. cholerae* Serovar O1 besteht im Gegensatz zu *Escherichia coli* aus zwei ringförmigen Chromosomen von 2,4 Megabasen (Mb) und 1,6 Mb. Die beiden Chromosomen sind Träger mobiler genetischer Elemente, die für die Pathogenität von *V. cholerae* verantwortlich sind. Von pathogenetischer Bedeutung ist die Integration der Genome zweier filamentöser Phagen: VPIΦ (***V**ibrio cholerae* **P**athogenitäts**i**nsel **Ph**age) und CTXΦ (*C*holera-*T*o*x*in-*Ph*age). VPIΦ kodiert für ein fimbrielles Adhäsin („*t*oxin-*c*oregulated *p*ilus" TCP), das einerseits den Vibrionen die Kolonisierung der Dünndarmmukosa erlaubt und andererseits dem Phagen CTXΦ als Rezeptor dient. CTXΦ trägt Gene für die zwei Untereinheiten des Choleratoxins (*ctxA,B*), und für Phagenstrukturproteine, die wahrscheinlich auch zytotoxische Aktivitäten haben. Eine CTXΦ Phagenkonversion setzt also eine Lysogenisierung von Vibrionen mit VPIΦ voraus. Für die Pathogenität ist auch bedeutsam, daß CTXΦ in beide Chromosomen gleichzeitig und mehrfach integrieren kann, was die Toxizität der Vibrionen erhöht („Gendosiseffekt"). Bemerkenwert ist, daß die integrierten Phagengenome CTXΦ und VPIΦ zu defekten Prophagen degenerieren können und damit ihre Infektiosität verlieren. Für den Lebenszyklus des Choleraerregers scheint bedeutsam zu sein, daß die Freisetzung von Phagen und die Phagentransduktion im Dünndarmmilieu besonders gefördert wird. Da es sich bei CTXΦ und VPIΦ um filamentöse Einzelstrang-DNA-Phagen handelt, können die Phagen ohne Bakteriolyse freigesetzt werden. Die Choleratoxinwirkung und die genetischen Mechanismen der Toxingen-Übertragung und -Amplifikation sind wahrscheinlich die entscheidenden Faktoren für die epidemiologische Ausbreitung und die endemische Persistenz des Choleraerregers.
Die zwei „Pathophagen" CTXΦ und VPIΦ sind Beispiele für mobile genetische Elemente, die aus apathogenen *V. cholerae* in zwei „Quantensprüngen" (1. VPIΦ Integration, 2. CTXΦ Integration) einen Choleraerreger entstehen lassen können. Die Konversion zum Choleraerreger setzt aber noch das Vorhandensein weiterer Gene für Pathogenitätsfaktoren voraus (Hämolysin, diverse Hämagglutinine/Adhäsine, Lipasen, Proteasen u.a.). Diese Bedingung ist wahrscheinlich nur bei wenigen *V. cholerae* Stämmen der Serovar O1 gegeben. Durch genetische Analysen konnte gezeigt werden, daß auch der Serovar O139-Endemiestamm aus einem O1 Stamm (wahrscheinlich Serovar O1 / Biovar eltor) nach Austausch der O1-Antigenbiosynthesegene (*rfb*) durch O139 *rfb* Gene entstanden ist. Gleichzeitig mit den O139 *rfb* Genen ist auch eine Kapselpolysaccharid-Determinante aufgenommen worden (zusammen 35 Kb DNA). Zusammenfassend lassen die Ergebnisse der genetischen Analyse der Pathogenität von *Vibrio cholerae* vermuten, daß es sich bei den Choleraerregern nur um wenige Klone handelt, die durch Koevolution mit dem Menschen ihre Pathogenität erworben haben und sich deshalb von den nicht-pathogenen *V. cholerae* Stämmen, die sich an die Wasserfauna adaptiert haben, wesentlich unterscheiden.

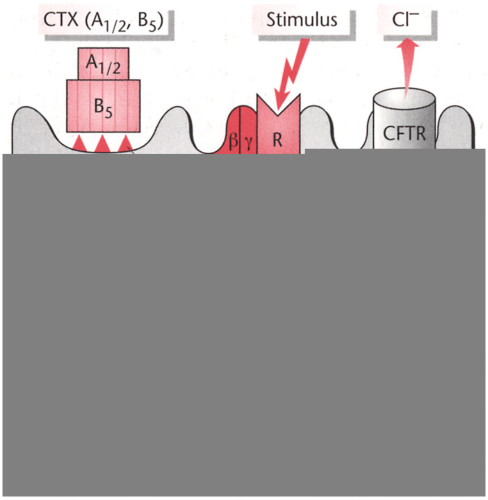
Charakteristische biologische Eigenschaften

Vibrio cholerae-Bakterien sind fakultativ anaerob, bevorzugen allerdings für ihr Wachstum aerobe Verhältnisse. Sie wachsen in einfachen Nährlösungen (z.B. Peptonwasser), tolerieren erhöhte pH-Werte (Alkalitoleranz maximal bis pH 10) und werden bei erhöhten Kochsalzkonzentrationen im Wachstum beschleunigt. Als gram-negative Bakterien können sie die typischen Oberflächenantigene (Lipopolysaccharid: O-Antigen, Flagellen: H-Antigen und Polysaccharidkapsel: K-Antigen) ausbilden. Für die Serotypisierung haben sich bisher nur die O-Antigene bewährt, das H-Antigen ist wenig stamm-

Eigenschaft von *V. cholerae* ist die Fähigkeit, unter Streßbedingungen (z.B. „Aushungern“ in Phosphatpuffer bei 4 °C) sogenannte „*v*iable but *n*on-*c*ulturable“ (VNC) Formen zu bilden (Dormanz-Stadien), die ihre Infektiosität behalten. Zu den besonderen Eigenschaften der Choleraerreger gehört die spezifische Anpassung an den Gastrointestinaltrakt des Menschen, eine ökologische Nische, die den non-O1/O139 *V. cholerae* Bakterien nicht zur Verfügung steht.

Pathogenese und Pathogenitätsfaktoren

4



spezifische Zielsequenz in einer Chemilumineszenzreaktion nachweist. Der Einsatz dieses Verfahrens ist jedoch in der Regel nicht notwendig.

Kapseltypen
Bekapselte Stämme werden eingeteilt in sechs Serotypen a–f, die sich in ihrem chemischen Aufbau und ihrer Antigenität unterscheiden. Nicht-bekapselte Stämme sind in diesem System nicht typisierbar, da sie nicht mit den spezifischen Antiseren reagieren.

Die Polysaccharidkapsel ist der Virulenzfaktor, dessen Bedeutung für die Pathogenese schwerer Infektionen am besten belegt ist.

Unter den verschiedenen Kapseltypen a,b,c,d,e,f ist es das Polyribosyl-Ribitolphosphat (PRP) des Typs b, das für die ausgeprägte Invasivität der Erreger mitverantwortlich ist und die Phagozytose der Erreger durch Granulozyten des Wirts blockiert.

Pathogenese und Virulenzfaktoren

Haemophilus influenzae kommt nur beim Menschen vor und stirbt außerhalb seines Wirtes rasch ab.

Eine Erkrankung setzt daher immer eine vorangehende Kolonisierung des oberen Respirationstraktes voraus.

In den meisten Fällen besteht dieser Zustand asymptomatisch über längere Zeit. Es kann jedoch zu einer „Durchwanderung" zu anderen Geweben, insbesondere des Respirationstraktes kommen. Dies führt zu Infektionen des Mittelohres, der Sinus, der Konjunktiven oder der tieferen Lungenbezirke. Gelegentlich gelangen die Bakterien in die Blutbahn und, wenn sie im intravasalen Raum überleben können, in andere Regionen des Körpers, z.B. in die Meningen, die Gelenke oder die Lunge.
H. influenzae verfügt über mehrere **Virulenzfaktoren**, welche die Kolonisierung des Respirationstraktes ermöglichen: Das sekretorische IgA und der mukoziliale Transport als Mechanismen der Abwehr werden überwunden, indem ein Zilien-toxisches Lipo-Oligosaccharid (LOS) und eine extrazelluläre Serin-Protease (*Iga*) mit Endopeptidaseaktivität freigesetzt werden. Diese Protease inaktiviert spezifisch IgA1. Zusätzlich verfügt der Erreger über ein ganzes Arsenal von Adhäsionsmolekülen (s.u.), welche spezifische Wirtszell-Rezeptoren erkennen und die Anhaftung an das Epithel stabilisieren. Da die Anhaftung an das Epithel für die Bakterien ein besonders wichtiger Überlebensfaktor ist, sind die Faktoren für die Aufrechterhaltung dieser Fähigkeit genetisch redundant.

Fimbrien
Wie viele andere gram-negative Bakterien vermag auch *H. influenzae* Fimbrien bzw. Pili auszubilden, die eine Agglutination von Erythrozyten und das Anhaften der Erreger an die Epithelien des Oropharynx bewirken. Daher sind Isolate vom Nasopharynx im Gegensatz zu den isogenen Isolaten aus dem Blut oder Liquor

Tab. 4.23 Differenzierung von *Haemophilus*-Arten

Species	Faktor-abhängigkeit X	V	Hämolyse Pferdeblut	Fermentation Glukose	Saccharose	Laktose	Mannose	Katalase
H. influenzae	+	+	–	+	–	–	–	+
H. parainfluenzae	–	+	–	+	+	–	+	D
H. ducreyi	+	–	–	–	–	–	–	–
H. aphrophilus	–	–	–	+	+	+	+	–
H. paraphrophilus	–	+	–	+	+	+	+	–
H. haemolyticus	+	+	+	+	–	–	–	+
H. parahaemolyticus	–	+	+	+	+	–	–	+
H. segnis	–	+	–	(+)	(+)	–	–	D

+ = positive Reaktion;– = negative Reaktion; (+) = schwach-positive Reaktion; D = differente Reaktion, d.h. positive oder negative Reaktion möglich

mit Fimbrien ausgestattet. Die Gene sind auf dem Chromosom in einer Gruppe angeordnet, *hif*A–*hif*E, die neben dem Hauptstrukturgen *hif*A weitere Gene für die Translokation, den Zusammenbau und die Stabilisierung enthalten.

Die Persistenz im Wirt erfordert einen ständigen Nachschub an Nährstoffen und gleichzeitig Schutz vor dem Immunsystem des Wirts. Um dies zu erreichen, hat *H. influenzae* komplexe Systeme der Phasen- und Antigenvariation entwickelt,

allerletzter Zeit die Bedeutung der anderen Serotypen, insbesondere des Typ f, bei den invasiven Erkrankungen zuzunehmen.

Epiglottitis

Die Epiglottitis ist eine sehr seltene, meist hochakut einsetzende Erkrankung mit Schwellung des submukösen Gewebes im oberen Kehlkopf. Der Zustand ist dramatisch und verschlechtert sich schnell: die Patienten ringen nach Luft und drohen zu ersticken. Da es jederzeit zur Verlegung der Atemwege und Laryngospasmus kommen kann, ist der Epiglottitisverdacht immer als pädiatrischer Notfall anzusehen.

Bronchopulmonale Infektionen

Diese werden in den Industrieländern überwiegend von nicht-bekapselten Stämmen verursacht und treten als Tracheobronchitis und Pneumonie bei Erwachsenen und Kindern auf. In den Entwicklungsländern sind nach WHO-Schätzungen jährlich zwei bis drei Millionen Fälle von akuter Pneumonie auf den Kapseltyp b zurückzuführen. Auch bei den pulmonalen Infektionen kommt es häufig zu passageren Bakteriämien. Die Mehrzahl der Patienten in unseren Breiten weist prädisponierende Faktoren auf, wie z.B. Malignome, chronisch-obstruktive Lungenerkrankungen, Alkoholismus, HIV-Infektion oder Schwangerschaft.

Infektionen im HNO-Bereich, andere Infektionen

Haemophilus influenzae ist bei Kindern der am zweithäufigsten identifizierte Erreger einer **Otitis media** nach *S. pneumoniae*. In der Regel handelt sich um nicht-bekapselte Stämme, die auch bei der Sinusitis des Erwachsenen von Bedeutung sind.
Ein bestimmter Biotyp von *H. influenzae* (Biotyp III, früher als H. aegyptius oder KOCH-WEEKS-Bazillus bezeichnet) ist der wichtigste Erreger der eitrigen, bakteriellen **Konjunktivitis**. Selten ist *H. influenzae* auch als Erreger einer Infektion des Herzens (Perikarditis, Endokarditis), des Abdomens (Peritonitis) und des weiblichen Genitaltraktes (Adnexitis, Endometritis) zu finden.

Laboratoriumsdiagnose

Geeignetes Untersuchungsmaterial sind bei den systemischen Infektionen vor allem Blutkulturen und Liquor, ansonsten Proben/Abstriche vorzugsweise aus der erkrankten Körperregion wie bronchoalveoläre Lavage, Sputum, Eiter, Abstriche vom Auge, der Nase, Rachen. **Blutkulturen** können auch bei Infektionen der Atemwege diagnostisch wegweisend sein. Kurze Versandzeiten und schnelle Verarbeitung des Materials im Labor sind wegen der Empfindlichkeit der Erreger für eine optimale Diagnostik entscheidend. **Liquor:** Um eine diagnostisch wegweisende GRAM-Färbung, einen Antigennachweis und eine Kultur zu ermöglichen, sollte wenigstens 1 ml nativen Liquors an das mikrobiologische Labor eingesandt werden. Zusätzliche Beimpfung von Liquorkulturflaschen unmittelbar nach Entnahme erhöht die kulturelle Ausbeute.

> Proben, die zur Anzucht von *Haemophilus* entnommen werden, sollten möglichst nicht mit anderen Mikroorganismen (z.B. Bakterien der Mundflora) kontaminiert sein, da diese die Erkennung und Isolation der Erreger beeinträchtigen. Um die Mischflora zu unterdrücken, kann ein Kochblutagar mit Zusatz des Antibiotikums Bacitracin verwendet werden, gegen das *H. influenzae* resistent ist.

Empfehlenswert sind Entnahmetechniken, die einen Schutz der aus tiefer liegenden Lungenabschnitten gewonnenen Probe vor Kontamination mit Mikroorganismen des oberen Respirationstraktes gewährleisten, z.B. bronchoskopisch gewonnene broncho-alveoläre Lavage.
Der diagnostische Wert von Nasopharynxabstrichen zur Klärung der Ätiologie der Infektionen des oberen Respirationstraktes und der Otitis media ist wegen des häufigen asymptomatischen Trägertums als gering anzusehen.
Probenmaterial wird auf Blutagar mit Amme (s.o.) und auf Kochblutagar ausgeimpft. Die Nährböden sollten in einer aeroben Atmosphäre mit Zusatz von 5–10% CO_2 bei 35–37 °C für 48 bis 72 Stunden bebrütet werden. *Haemophilus*-Kolonien sind klein, durchscheinend und weisen wegen der Produktion von Indol aus Tryptophan einen charakteristischen Geruch auf, der an Mäuseurin erinnert. Die **definitive Diagnose** erfolgt auf Grund der GRAM-Färbung, dem Bedürfnis für die Wachstumsfaktoren und dem Porphyrintest. Für klinische Belange ist der Nachweis der Betalaktamasebildung wichtig, da die Produktion dieses Enzyms durch den isolierten Erreger Konsequenzen für die Wahl des geeigneten Antibiotikums hat.
Antigennachweise: Der Test ist brauchbar bei

Infektionen durch den Kapseltyp b, da das Kapselpolysaccharid im Liquor, Blut, Gelenkpunktat oder in dem durch Ultrafiltration konzentrierten Urin nachweisbar sein kann. Dazu werden Suspensionen von Latexpartikeln benutzt, an deren Oberfläche kapseltypspezifische Antikörper gekoppelt wurden. Dieser Nachweis ist für den geübten Untersucher einfach in der Handhabung und schnell durchzuführen. Er kann jedoch wegen eingeschränkter Sensitivität und fehlender Information zum Resistenzverhalten die Kultur nicht ersetzen. Zu beachten ist, daß eine frische Hib-Impfung für eine Dauer von drei Wochen einen falsch-positiven Antigennachweis im Urin oder Liquor verursachen kann.

Therapie

Schnelle Diagnose und frühe empirische Chemotherapie sind die wichtigsten Voraussetzungen für eine optimale Behandlung der schweren Infektionen, insbesondere der **Meningitis**.

Ohne Kenntnis des Antibiogramms sollte die Therapie mit einem Cephalosporin der dritten Generation (Cefotaxim, Ceftriaxon o.ä.) begonnen werden.

In Entwicklungsländern wird aus Kostengründen weiterhin häufig Ampicillin eingesetzt, dessen Wirksamkeit aber wegen der fortschreitenden Verbreitung des Betalaktamase-Gens nicht sicher ist. Die gleichzeitige Gabe eines Betalaktamase-Inhibitors (Clavulansäure, Sulbactam o.ä.) kann das Ampicillin erfolgreich vor der Spaltung durch die Betalaktamase schützen.
Bei Infektionen des **Respirationstraktes**, des Mittelohres und der Sinus ist Amoxicillin weiterhin das Mittel der Wahl, wenn die Erreger empfindlich sind. Bilden die Erreger Betalaktamase, so können bei Kindern neuere Oralcephalosporine (Cefixim, Ceftibuten, Cefpodoxim-Proxetil), Amoxicillin/Betalaktamaseinhibitor-Kombinationen, Cotrimoxazol oder Makrolide, bei Erwachsenen auch Tetrazykline oder Fluorchinolone eingesetzt werden.

Zur Vermeidung von Therapieversagen sollte zu Beginn der Antibiotikatherapie durch eine mikrobiologische Untersuchung das Resistenzverhalten des jeweiligen Isolats untersucht werden.

Die **Konjunktivitis** wird durch lokal applizierte Antibiotika (Augentropfen, Augensalben) behandelt, die Chloramphenicol, Rifampicin, Sulfonamide oder auch Fluorochinolone enthalten. Zum Schutz empfänglicher Personen ist bei Erkrankung eines Kindes an einer *Haemophilus influenzae*-Meningitis oder -Epiglottitis eine **Rifampicin-Prophylaxe** der nicht-geimpften Kontaktpersonen (nicht jedoch Schwangere) im Haushalt oder der Kindereinrichtung empfehlenswert. Besonders der Schutz von Kindern unter 2 Jahre ist zu beachten. Eine Chemoprophylaxe ist nicht mehr sinnvoll, wenn der Kontakt zum Indexpatienten mehr als 7 Tage zurückliegt. Säuglinge im ersten Lebensmonat erhalten 10 mg/kg KG/Tag, ältere Säuglinge und Kinder unter 12 Jahren erhalten 20 mg/kg KG/Tag, Kinder über 12 Jahre und Erwachsene erhalten 600 mg/Tag alle jeweils in einer Einzeldosis über 4 Tage.

Epidemiologie und Bekämpfung

Das einzige Reservoir für *H. influenzae* ist der Mensch. Die Übertragung erfolgt durch Tröpfcheninfektion ausgehend von asymptomatischen Trägern. Bei nicht-geimpften Kindern fanden sich bis zu 15% Träger des Typs Hib. Jedoch nur ein sehr kleiner Teil der Besiedelten erkrankt später tatsächlich (Tab. 4.24). Wegen der großen Zahl von Keimträgern sind Umgebungsuntersuchungen nicht sinnvoll. Ein Ausschluß eines Ausscheiders von z.B. einer Schule oder Tageseinrichtung ist nicht erforderlich, solange bei ihm keine meningitis- oder epiglottitisverdächtigen Symptome auftreten. Unabhängige Risikofaktoren für eine Infektion sind fehlende Stillzeit als Säugling, beengte Lebensverhältnisse und Unterbringung in einer Gemeinschaftseinrichtung.
Der direkte Nachweis von *H. influenzae* aus Liquor oder Blut ist nach dem Infektionsschutzgesetz **meldepflichtig**. Personen, die an einer *H. influenzae* Typ b-Meningitis erkrankt sind, dürfen erst nach ärztlicher Genehmigung wieder in Gemeinschaftseinrichtungen arbeiten.

Immunität, Immunprophylaxe

Bei älteren Kindern oder Erwachsenen induziert die Polysaccharidkapsel bakterizide Antikörper, ohne jedoch zu einer langandauernden Immunisierung zu führen, da nicht ausreichend Gedächtniszellen gebildet werden und somit eine natürliche Boosterung durch wiederkehrende Kontakte mit dem Erreger unterbleibt. Bei Kindern unter 18 Monaten werden durch

	Kapseltyp b	nicht-bekapselt
Erkrankungsalter	Kleinkinder	Kinder und Erwachsene
Träger in Nasopharynx	2–4%	40–80%
Typische Erkrankungen	Meningitis Pneumonie Epiglottitis Arthritis Perikarditis Zellulitis	Otitis media Sinusitis Bronchitis Pneumonie Konjunktivitis
Bakteriämie	häufig	selten

Tab. 4.24 Verteilung des Vorkommens bekapselter (Typ b) und nicht-bekapselter *Haemophilus influenzae*

das Polysaccharid allein keine sicher bakteriziden Titer erreicht. Eine neue Generation von Hib-Impfstoffen wurde daraufhin so konstruiert, daß ein T-Zell abhängiges Proteinantigen mit dem Hib-Polysaccharid konjugiert wurde. Diese **Konjugatvakzinen** führen nicht nur zu einem guten immunologischen Gedächtnis und protektiven Antikörpertitern in Kleinkindern, sondern vermindern zusätzlich die nasopharyngeale Trägerrate für Hib. Es wird also zusätzlich zum individuellen Schutz ein Kohortenschutz durch verminderte Transmission dieses Erreger-

ihre Bedeutung durch den Ferntourismus zugenommen. Als Ursache von Ulzerationen der Genitalschleimhaut ist der Erreger als Wegbereiter für andere sexuell übertragbare Infektionen, nicht zuletzt der HIV-Infektion, anzusehen.

Klinik

An der Kontaktstelle entsteht anfangs nach einer Inkubationszeit von einem Tag bis zu mehreren Wochen (im Mittel 2–5 Tage) eine **weiche Papel mit erythematösem Hof.** Diese eröffnet

kungen ähnliche klinische Bilder hervorrufen und gleichzeitig vorliegen können (Ulcus durum als Primäraffekt der Syphilis).
H. ducreyi verursacht keine disseminierten Infektionen selbst bei deutlicher Immunsuppression z.B. durch HIV. Läsionen außerhalb des Genitalbereichs können jedoch auftreten und werden durch Autoinokulation erklärt. Die relativ niedrige optimale Wachstumstemperatur von 33–35 °C schließt möglicherweise eine Infektion tieferer Körperregionen aus.

Laboratoriumsdiagnose

Die Diagnose wird durch die Kultur der Erreger aus dem Abstrichmaterial vom Ulcus, von rupturierten Lymphknoten oder Lymphknotenaspirat gestellt.

In ca. der Hälfte der Fälle kann bereits die GRAM-Färbung aus dem Abstrichmaterial durch die für *H. ducreyi* typische „Fischzuganordnung" der Massen von gram-negativen, kokkoiden Stäbchen einen Hinweis auf den Erreger geben. Die Anzucht ist schwierig und benötigt reichhaltige Spezialnährböden wie z.B. GC-HgS (Gonokokken-Agarbasis angereichert mit Hämoglobin, fötalem Kälberserum, IsoVitaleX und mit 3 µg/ml Vancomycin zur Unterdrückung der grampositiven Begleitflora) oder MH-HB (MÜLLER-HINTON-Agar mit gekochtem Pferdeblut, IsoVitaleX und Vancomycin). Für die erfolgreiche **Anzucht** ist eine möglichst direkte Beimpfung und die Verwendung von mindestens zwei verschiedenen Nährböden hilfreich. Die Nährböden werden bei 33–35 °C für mindestens 72 Stunden in einer aeroben Atmosphäre mit 5–10% CO_2 inkubiert. Verdächtige Kolonien sind klein, graubraun, von fester Konsistenz und lassen sich mit einer Impföse schlecht verreiben. Die Bestätigung der Spezies geschieht mit den oben beschriebenen Verfahren. Serologische Methoden (IgG-EIA, IgM-EIA) zum Nachweis der *H. ducreyi*-Infektion wurden entwickelt, zeigten bisher aber eine niedrige Sensitivität und Spezifität. Der direkte Antigen-Nachweis und PCR-Methoden sind in der Entwicklung aber gegenwärtig noch nicht standardisiert.

Therapie

Bewährte und von der WHO empfohlene Therapieregime:

- Erythromycin (500 mg) dreimal täglich für 7 Tage

Ersatzweise:

- 1 g Azithromycin oral als Einmalgabe
- 250 mg Ceftriaxon i.m. als Einmalgabe
- 500 mg Ciprofloxacin oral als Einmalgabe
- 2 g Spectinomycin i.m. als Einmalgabe
- Cotrimoxazol (160/800 mg) zweimal täglich für 7 Tage

Resistenzen wurden mit der Ausnahme von Ceftriaxon mit unterschiedlicher Häufigkeit bei allen erwähnten Substanzen gefunden, Therapieversagen kann bei der empirischen Therapie folglich nicht ausgeschlossen werden. Selbst Kombinationen von Amoxicillin mit Betalaktamase-Inhibitoren sind nicht in jedem Fall wirksam.

Epidemiologie und Bekämpfung

Die Infektion kommt weltweit vor und ist typischerweise mit niedrigem sozioökonomischem Status assoziiert. Besonders häufig ist sie in Afrika, Asien und Lateinamerika. Zur Aufrechterhaltung der Endemie des Erregers trägt ein häufiger Wechsel des Sexualpartners und ungeschützter Verkehr bei. Die Weiterverbreitung des Erregers durch eine infizierte Person findet in einem Zeitraum von ca. 45 Tagen nach Ausbruch der Erkrankung statt. Asymptomatische Träger kommen besonders bei Frauen vor. Die Identifizierung und Behandlung der Sexualpartner, ob symptomatisch oder nicht, ist wichtig zur Unterbrechung der Infektionskette.

4.8.5 Gardnerella vaginalis, unspezifische Kolpitis

Die Spezies *Gardnerella vaginalis* und die ihr zugeschriebene ätiologische Bedeutung haben in der Vergangenheit mehrfach zu Kontroversen geführt. Der Erreger wurde 1955 von GARDNER und LUKES als *Haemophilus vaginalis* bezeichnet. Seine fehlende Abhängigkeit von den Faktoren X und V, sein gram-labiles bis gram-positives Färbeverhalten und andere Eigenschaften führten dazu, daß die Art zwischenzeitlich als *Corynebacterium vaginale* bezeichnet wurde. Durch zwei große taxonomische Studien im Jahre 1980 wurde die Eigenständigkeit der nunmehr neuen Spezies in einer eigenen Gattung etabliert. Der strukturelle Zellwandaufbau zeigt gewisse Ähnlichkeiten mit gram-positiven Bakterien der Genera *Actinomyces*, *Arcanobacterium* und *Corynebacterium*, jedoch besitzt die *G. vaginalis*-Zellwand eine dünnere Peptidogykan-Schicht.

Klinik

Der Terminus „unspezifische Kolpitis" bezeichnet ein klinisches Syndrom vermuteter infektiö-

ser Genese, für das keiner der akzeptierten spezifischen Erreger wie *Candida*-Arten, *Trichomonas vaginalis* oder andere nachgewiesen werden konnten. GARDNER führte statt dessen die *G. vaginalis*-Vaginitis als definiertes, spezifisches Krankheitsbild ein, dem die meisten der früher unter dem Sammelbegriff 'unspezifische Kolpitis' diagnostizierten Krankheiten zuzurechnen seien. *G. vaginalis* ist allerdings nicht als alleiniger Erreger anzusehen, vielmehr zeigen neuere Untersuchungen eine **polymikrobielle Ätiologie** dieser Erkrankung mit weiteren Bakterien wie *Mycoplasma hominis*, verschiedenen Anaerobiern wie *Prevotella*, *Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* und *Mobiluncus*-Arten.

Die „unspezifische Kolpitis" zeigt als auffallendstes klinisches Symptom einen vermehrten gräulichen vaginalen Ausfluß (Fluor) mit fischigem Geruch. Da eine entzündliche Reaktion des Vaginalepithels und der Cervix in der Regel nicht vorliegt, handelt es sich korrekter um eine **bakterielle Vaginose**.

> Zur Diagnosestellung ist die Erfassung klinischer Kriterien und die direkte mikroskopische Untersuchung besser geeignet als der kulturelle Nachweis von *G. vaginalis*.

Klinischen Kriterien sind:

- dünne, homogene Konsistenz des Ausflusses
- erhöhter pH-Wert (> 4,5)
- fischiger Geruch nach Zugabe von 10% KOH
- Nachweis von „clue cells" (s.u.), die bis zu 20% aller vaginaler Zellen ausmachen
- Verschiebung der normalen Vaginalflora von Laktobazillen zu *G. vaginalis*, Anaerobiern, *Mycoplasma hominis*
- Verschiebung des Verhältnisses Succinat zu Lactat (> 0,4)
- Vorkommen von Putrescin und Cadaverin

Mindestens drei der erstgenannten fünf Kriterien sollten bei einer bakteriellen Vaginose vorliegen.

Andere Infektionen durch *G. vaginalis* sind sehr selten. Bakteriämien kommen fast ausschließlich bei Frauen mit gynäkologischen Erkrankungen vor wie postpartaler Endometritis, Chorioamnionitis, septischer Abort.

Laboratoriumsdiagnose

Die GRAM-Färbung zeigt dünne, gram-labile Stäbchen oder Kokkobazillen. Die Bakterien sind nicht beweglich, wachsen fakultativ anaerob mit nur schwach ausgeprägtem fermentativem Stoffwechsel, bilden keine Kapsel und sind Katalase- sowie Oxidase-negativ. Der Goldstandard der Diagnose ist die mikroskopische Beurteilung des Direktpräparats aus dem Vaginalabstrich und nicht die kulturelle Anzüchtung, da diese Bakterien auch Bestandteil der Normalflora sind. Der typische Befund zeigt in großer Zahl die von dünnen, pleomorphen Stäbchen bedeckten Epithelzellen, die in dieser Konstellation als **„clue cells"** bezeichnet werden, da sie den entsprechenden Hinweis (engl. clue) auf die *G. vaginalis* Vaginose geben. Zusätzlich ist eine Verschiebung der Normalflora erkennbar, d.h. Laktobazillen fehlen fast vollständig, während gram-labile und gram-negative Stäbchen und Kokkobazillen überwiegen. Die Bakterien lassen sich auf komplexen Nährböden, z.B. Kochblutagar oder Columbia CNA-Agar unter CO_2-angereicherter Atmosphäre oder im Kerzentopf bei 37 °C anzüchten und bilden dann kleine (0,5 mm in 48h), glatte, runde, opake Kolonien. Auf Nährböden, die Menschen- oder Kaninchenerythrozyten enthalten, sind die Kolonien zur β-Hämolyse fähig. Die Bestätigung der Differenzierung erfolgt mit biochemischen Tests wie sie in kommerziellen Identifizierungssystemen, z. B. API-Corynesystem, zum Einsatz kommen.

Therapie

Das Mittel der Wahl sowohl für die lokale als auch die systemische Therapie ist Metronidazol. Penicillin und Ampicillin sind in der Regel auch wirksam und bieten sich für die systemische Therapie der postpartalen Sepsis an, wenn *G. vaginalis* ohne die anaerobe Begleitflora nachgewiesen wurde. Cephalosporine, Tetrazykline, Makrolide, Chinolone und Sulfonamide sind zur Therapie nicht geeignet.

Epidemiologie

Das natürliche Habitat für *G. vaginalis* ist die Vagina. Dort ist es Bestandteil der Normalflora und kann bei fast 70% der gesunden Frauen ohne Zeichen einer Vaginalinfektion isoliert werden. Bei bakterieller Vaginose findet sich *G. vaginalis* jedoch in fast 100% der Fälle in der Vagina und ebenfalls in der Mehrzahl in der Urethra der männlichen Partner.

Literatur

MANDELL, G. L., J. E. BENNETT and R. DOLIN: Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed., Churchill Livingstone, New York, NY, 1995; MOXON, E. R.: *Haemophilus influenzae*. Vol. 2, pp. 2039–2045; HAND, W. L.: *Haemophilus* species (including chancroid). Vol. 2, pp. 2045–2050; SPIEGEL, C. A.: *Gardnerella vaginalis* and *Mobiluncus* species. Vol. 2, pp. 2050–2053

CAMPOS, J.M.: *Haemophilus*. In: MURRAY, P. R., E. J. BARON, M. A. PFALLER, F. C. TENOVER and R. H. YOLKEN (eds): Manual of Clinical Microbiology, 7th ed., ASM Press, Washington, DC, 1999

RAO, V. K., G. P. KRASAN, D. R. HENDRIXSON, S. DAWID and J. W. ST. GEME: Molecular determinants of the pathogenesis of disease due to non- typable *Haemophilus influenzae*. FEMS Microbiol Rev **23** (1999) 99–129

TREES, D. L., and S. A. MORSE: Chancroid and *Haemophilus ducreyi*: an update. Clin Microbiol Rev **8** (1995) 357–75

CATLIN, B. W.: *Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations, and controversies. Clin Microbiol Rev **5** (1992) 213–237

4.9 Pseudomonaden und andere anspruchslose, nicht fermentierende gram-negative Bakterien

ALEXANDER VON GRAEVENITZ

Taxonomie

Zu den für den Menschen relevanten nicht fermentierenden gram-negativen Stäbchen („Nonfermenter") zählen eine große Anzahl anspruchsvoller *(Bartonella, Bordetella, Brucella,*

Die Taxonomie der nicht fermentierenden Gattungen ist in den letzten Jahren aufgrund molekularbiologischer Untersuchungen teilweise erheblich verändert worden; für einige Gattungen sind die älteren Bezeichnungen im Text aufgeführt.

Vorkommen

Die natürlichen Standorte dieser Keime sind Erdboden, Wasser, Pflanzen und Nahrungsmittel; einige wenige Spezies (z.B. *Oligella, Burkholderia mallei)* sind bisher nur bei Tier oder Mensch beobachtet worden. Für den Menschen sind Häufigkeit und pathogenetischer Wert der einzelnen Spezies unterschiedlich; am häufigsten werden *Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter* spp. und *Stenotrophomonas maltophilia* gefunden.

Physiologie

Die Hauptfunktion der freilebenden nichtfermentierenden Stäbchen ist der Abbau organischer (auch aromatischer) Substanzen, wodurch sie auch als Lebensmittelverderber auftreten können. Die meisten können sich bei Anwesenheit nur einer Stickstoff- oder Kohlenstoffquelle vermehren und wachsen gut bei 20–30 °C. Allen Vertretern dieser Gruppe gemeinsam sind fehlendes Wachstum bei Anaerobiose (einige Spezies vermögen allerdings Nitrat oder Arginin als Elektronenakzeptor zu verwenden) und fehlende Fermentation von Kohlenhydraten (Oxidation hingegen ist häufig).

Differenzierung

Wichtige morphologische Kriterien sind Anzahl und Lokalisation der Begeißelung, Koloniemor-

4.11 Die Gattung Brucella-Brucellose

Werner Köhler

Die Brucellose des Menschen ist eine von Bakterien der Gattung *Brucella* verursachte, durch direkten Kontakt (meist Berufskrankheit) oder durch den Genuß infizierter Milchprodukte übertragene Zooanthroponose, die zu einer langdauernden, mit undulierendem Fieber verlaufenden systemischen Infektion führt.

Bezeichnung der bestehenden Arteinteilung festgehalten (Tab. 4.25).

Morphologie

Brucellen sind kurze (0,6–1,5 × 0,5–0,7 µm), gram-negative, unbewegliche, nichtsporenbildende Stäbchen. In frischen Kulturen und in Organausstrichen liegen sie einzeln oder paarweise, in letzteren intrazellulär. Für den Nachweis in Geweben eignen sich Abstriche oder Abklatschpräparate, die mit speziellen Färbungen

Brucellen werden in **Makrophagen** (in den Lebersinusoiden, in Milz, Knochenmark, RES) nicht abgetötet, sie können sich darin sogar vermehren. Sie erreichen dies durch Ausschüttung von 5'-Guanosinmonophosphat und Adenin, wodurch die Degranulierung der Monozyten verhindert wird. In diesem Milieu sind sie vor der Wirkung von Antikörpern und Antibiotika geschützt. Besonders in der Leber können bei **Morbus BANG** die sogen. BANG-Granulome entstehen, die aus epitheloiden Zellen, Eosinophilen und Neutrophilen, Riesenzellen und Fibroblasten gebildet und nur schwer von anderen Granulomen (z.B. bei produktiver Tuberkulose) abzugrenzen sind.

Bei Tieren (nicht beim Menschen) können die **Milchdrüsen** befallen werden, wodurch es zur Ausscheidung mit der Milch kommt. Brucellen können außerdem – nur bei Kühen, Schafen, Ziegen und Schweinen – die **Plazenta** infizieren und dadurch zum Abort führen. Dies wird durch den hohen Gehalt der Plazenta an Erythrit (Erythrol, einem vierwertigen Zuckeralkohol) bewirkt, der das Wachstum der Brucellen fördert.

Klinik

Der Verlauf der menschlichen Erkrankung ist vom Erregertyp abhängig. Besonders schwer verlaufen Melitensis-, am leichtesten BANG-Erkrankungen. Die porcine Brucellose nimmt eine Mittelstellung ein.

Die **Inkubationszeit** wird sehr unterschiedlich angegeben, im Mittel 7–21 Tage, bei der Melitensis-Infektion werden bis zu 3 Monate angenommen.

Das klinische Bild der Brucellose ist sehr unterschiedlich. **Erste unspezifische Krankheitserscheinungen** sind Abgeschlagenheit, Unwohlsein, Leistungsminderung, Schweißausbrüche, Kopfschmerzen und Gliederschmerzen mit unterschiedlich ausgeprägtem Krankheitsgefühl.

Im weiteren Verlauf wird die **charakteristische Fieberkurve** beobachtet: normale und subfebrile Morgentemperaturen wechseln mit hohen Abendtemperaturen (39–40 °C) ab. Es entsteht das typische Bild der Fieberkurve, das der Krankheit die frühere Bezeichnung „Febris undulans" gegeben hat. Der Temperaturanstieg geht mit Schüttelfrost einher. Das Fieber bleibt einige Stunden bestehen, unter starken Schweißausbrüchen fällt es gegen Morgen wieder ab.Bei leichtem Verlauf fiebern die Patienten etwa 1 Woche, bei schwerem 3–4 Wochen. Der Kranke ist stark geschwächt, leidet an Nausea, Erbrechen, Durchfall, Gliederschmerzen und starkem Gewichtsverlust. Die Untersuchung ergibt eine Leber- und Milzvergrößerung sowie geschwollene Lymphknoten. Wird diese **akute, septische Form** nicht rechtzeitig erkannt und behandelt, kann sie in eine **chronische Form** mit zahlreichen Organmanifestationen übergehen, vor allem mit Leberbefall (Hepatitis), Orchitis, Arthritiden (besonders Spondylarthritis).

Bei **Morbus BANG** kann auch eine *abortive Erkrankung* auftreten, die sich als „grippaler Infekt" mit Mattigkeit, leichten Kopfschmerzen, erhöhten Temperaturen und Schweißausbrüchen äußert. Die nach wenigen Tagen überstandene Erkrankung wird meist nicht als Brucellose erkannt, sondern nur zufällig durch serologische Tests nachträglich verifiziert. Dies trifft auch für die **inapparente Brucellose** zu, die ohne Krankheitserscheinungen einhergeht. Beide Formen können jedoch in eine chronische Brucellose übergehen.

Die **klinische Diagnose** stützt sich auf die Anamnese (berufliche Exposition, Milchproduktverzehr in Mittelmeerländern) und auf die klinische Symptomatik undulierendes Fieber. Bei der Vielgestaltigkeit des klinischen Bildes sind *differentialdiagnostisch* zahlreiche andere Erkrankungen zu berücksichtigen, wie z.B. Typhus/Paratyphus, Lymphogranulomatose, Malaria, Leptospirosen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Endokarditiden und Meningitiden anderer Ätiologie.

Laboratoriumsdiagnose

Für das Vorliegen einer Brucellose ist der Erregernachweis beweisend. Im chronischen Stadium besteht wenig Aussicht auf die Isolierung von Brucellen.

Untersuchungsmaterial: Blut (Zitratblut), das mehrfach zu entnehmen ist (am besten im Fieberanstieg oder während des Fieberanfalls). Geeignet sind auch Sternal- und Gelenkpunktate, Lymphdrüsen-, Leber- oder Milzbiopsien.

Kultur: Das Untersuchungsmaterial wird in flüssige Medien eingebracht (Tryptose- oder Brain-Heart-Infusion-Bouillon) sowie auf feste Medien ausgestrichen (Tryptose-Blut- oder Tryptose-Soja-Nährboden) und in einer 5–10% CO_2-Atmosphäre sowie parallel aerob bei 37 °C (Optimaltemperatur; Wachstumsgrenzen 10 °C bzw. 42 °C) bebrütet, da die aeroben Brucellen für die Erstisolierung meist eine erhöhte (5–10%) CO_2-Spannung benötigen. Nach

4–5 Tagen werden die flüssigen Medien erstmals auf feste Nährböden übertragen. Die Primärkultur ist bis zu 21 Tagen zu beobachten, ehe ein negatives Ergebnis mitgeteilt wird.
Biochemische Eigenschaften: Verschiedene Kohlenhydrate werden zwar fermentiert, sind aber für diagnostische Untersuchungen ohne größere Bedeutung. Indol wird nicht gebildet, Gelatine nicht verflüssigt, Nitrate werden zu Nitriten reduziert. Als ***Brucella*-verdächtig** gelten die auf festen Nährböden langsam wachsenden Kolonien (3–5 Tage), die mikroskopisch kokkoide, pleomorphe, gram-negative Stäbchen zeigen, oxydasepositiv sind, Harnstoff hydrolysieren (positiver Urease-Test, ausgenommen *B. ovis*), Glukose und Laktose nicht spalten und mit *Brucella*-Antiseren eine Objektträgeragglutination ergeben. Zur Speziesidentifizierung, die meist Speziallaboratorien vorbehalten ist, werden zusätzlich eine Bestimmung des CO_2-Bedarfs und die H_2S-Bildung herangezogen, sowie das Wachstum (oder die Hemmung des Wachstums) auf basischem Fuchsin-Tryptose-Agar und Thionin-Tryptose-Agar (s. Tab. 4.26)
Zur **serologischen Bestimmung** der Brucellen sind monospezifische Seren zu empfehlen. Die drei Hauptarten besitzen (in unterschiedlichen Quantitäten bei den Arten und Biovaren) zwei Oberflächenantigene (A = Abortus-Komplex; B = Melitensis-Komplex). Zur Herstellung der monospezifischen Antiseren werden *Brucella*-Antiseren kreuzweise mit Abortus- bzw. Melitensis-Stämmen absorbiert. Zur Bestimmung von *B. ovis* und *B. canis* wird ein Anti-R-Serum benutzt, mit dem nur diese beiden Arten reagieren. Die Bestimmung erfolgt mit der Objektträger- (oder Röhrchen-) Agglutination.

Nachweis von Antikörpern im Patientenserum

Antikörperbestimmungen werden meist mit hitzeabgetöteten Brucellen in Form der **Langsam-Agglutination** als Röhrchentests durchgeführt (WIDAL-Reaktion). Ein Titer von 1:160 oder höher, noch besser ein vierfacher Titeranstieg bei zwei im Abstand von 10–14 Tagen entnommen Blutproben, gelten als positiv. Erste positive Titer sind 7–10 Tage nach der Infektion zu erwarten und können monatelang bestehen bleiben. Niedrigere Titer sind bei chronischen Infektionen oder bei Kreuzreaktionen (s.u.) zu erwarten.
Die **Komplementbindungsreaktion** wird später (ab der 4. Krankheitswoche) positiv und früher negativ als die Agglutinationsreaktion. Bei chronischer Brucellose ist mit einer positiven KBR zu rechnen (bei negativer Agglutinationsreaktion). Bei einigen Patienten existieren blockierende Antikörper, die zu einem Prozonenphänomen führen. In diesen Fällen ist das Serum stärker zu verdünnen oder es ist ein COOMBS-Test durchzuführen. Neueren Datums sind ELISA-Tests, mit deren Hilfe rezente Infektionen (IgM-Antikörper) oder länger zurückliegende bzw. chronische Infektionen (Antikörper vom IgG-Typ) erfaßt werden.
Wie bei der Mehrzahl serologischer Nachweisverfahren ist mit **Antigengemeinschaften** zwischen unterschiedlichen Bakterien zu rechnen, die bei der Interpretation der Ergebnisse zu beachten sind. Dies betrifft im Falle von *B. abortus, B. melitensis* und *B. suis* vor allem die Antigengemeinschaft mit *Yersinia enterocolitica* O:9, außerdem mit *Francisella tularensis, E. coli*

Tab. 4.26 Differenzierung von *Brucella*-Arten

Spezies	CO_2-Bedarf	H_2S-Bildung	Wachstum auf Thionin-Medium a	Wachstum auf Thionin-Medium b	Wachstum auf Fuchsin-Agar**
B. abortus	+	+*	–*	+	+
B. melitensis	–	–	–	+	+
B. suis	–	+*	+*	+	–*
B. ovis	+	–	+	+	+
B. canis	–	–	+	+	–
B. neotomae	–	+	–	+	–

* unterschiedliche Reaktionen der Biovarietäten
** Konzentration 1 : 50 000
a Konzentration 1 : 25 000
b Konzentration 1 : 50 000

O157:H7 und einigen Salmonellen. Infektionen mit diesen Erregern können zu scheinbar niedrigen Anti-*Brucella*-Titern führen.

Therapie

Die früher übliche, aber noch gebräuchliche Therapieform mit Tetracyclin und Streptomycin ist heute meist ersetzt durch die Kombination Doxycyclin und Rifampicin über 4–6 Wochen. Alternativ kann anstelle des Rifampicins auch Gentamicin gegeben werden. Infolge der intrazellulären Lagerung der Brucellen ist die antibiotische Therapie problematisch. Afebrilität ist erst nach 2–7 Tagen zu erwarten und etwa 10% der Patienten erleiden Rezidive.

Epidemiologie und Prophylaxe

Infektionswege: Der Mensch infiziert sich über die verletzte oder intakte Haut sowie über Aerosole durch direkten Kontakt mit erkrankten Tieren oder deren infektiösen Ausscheidungen. Hierbei handelt es sich vor allem um berufsbedingte Infektionen: Tierärzte, Beschäftigte in Schlachthöfen oder Abdeckereien, Metzger. In Deutschland betraf dies Infektionen mit *B. abortus* (Morbus BANG). Ein weiterer Infektionsweg geht über infizierte Milch oder Milchprodukte (Schaf- und Ziegenkäse), betrifft meist *B. melitensis* und den Mittelmeerraum. Da Deutschland derzeit im Tierbestand brucellosefrei ist, sind die menschlichen Infektionen Importfälle (meist *B. melitensis*). Im Jahre 1998 wurden in der Bundesrepublik Deutschland 18 und im Jahr 1999 21 Brucellosen gemeldet.
Prävention: Beruflich Exponierte sollten beim Umgang mit infizierten oder verdächtigen Tieren oder deren Ausscheidungen Gummihandschuhe und Gesichtsmasken ragen. Bei Auslandsaufenthalten in *Brucella*-belasteten Gebieten Vermeidung von Rohmilch- und Käseverzehr.
Eine **Schutzimpfung** für Menschen steht nicht zur Verfügung.
Widerstandsfähigkeit: Durch Pasteurisierung werden Brucellen in der Milch rasch und sicher abgetötet. In Rohmilch können sie bis zu 4 Wochen, in Butter bis zu 4 Monaten, in Käse (Schaf- und Ziegenkäse) bis zu 9 Monaten überleben.
Meldepflicht: Nach § 7 des Infektionsschutzgesetzes ist der direkte oder indirekte Nachweis sämtlicher *Brucella*-Arten zu melden, soweit die Nachweise auf eine akute Infektion hinweisen.

Literatur

DUNIEWICZ, M., und J. VICKLICKY: Brucella-Infektionen. In: Handbuch der Inneren Medizin, Bd. 5: Infektionskrankheiten (Hrsg. OCKLITZ, H. W., H. MOCHMANN, W. KÖHLER und K. ZIEGLER), Fischer, Jena 1983, 655– 660 (ausführliche Angaben zur Klinik)

4.12 Die Gattung Bordetella (Keuchhusten)

GEORG PLUM

Gegenwärtig umfaßt die Gattung *Bordetella* die vier akzeptierten Spezies *B. pertussis, B. parapertussis, B. bronchiseptica, B. avium* und die drei neu vorgeschlagenen Spezies *B. hinzii, B. holmesii* und *B. trematum*, die nun eine Reihe von früher nicht genau zuzuordnenden Isolaten aufnehmen. *B. pertussis, B. parapertussis*, und *B. bronchiseptica* sind genetisch so nahe verwandt, daß sie neuerdings als Subspezies der gleichen Art diskutiert werden.
B. pertussis und *B. parapertussis* sind Erreger des **Keuchhustens** beim Menschen, während *B. bronchiseptica* hauptsächlich bei Tieren Infektionen des oberen Respirationstraktes mit Rhinitis und Husten verursacht. Nur selten ist *B. bronchiseptica* an Keuchhusten-ähnlichen Krankheitsbildern oder opportunistischen Infektionen beteiligt. *B. avium* ist ein pathogener Erreger bei Vögeln und von ökonomischer Bedeutung in der Tierhaltung.

4.12.1 Bordetella pertussis, Keuchhusten

Als Erreger des Keuchhustens, der weltweit immer noch zu den häufigsten Infektionskrankheiten des Kindesalters gehört, konnte 1906 von BORDET und GENGOU ein schwer anzüchtbares Bakterium identifiziert werden, das zunächst den hämophilen Stäbchenbakterien zugeordnet wurde. Bei der später notwendigen Abgrenzung und Klassifizierung als eigene Gattung wurde zu Ehren BORDETs die Bezeichnung *Bordetella pertussis* gewählt.

Vorkommen und Morphologie

Die zilientragenden Epithelzellen des menschlichen Respirationstraktes sind das alleinige Habitat für *B. pertussis* und *B. parapertussis*.
Bordetellen sind kleine (ca. 0,8 × 0,4 µm), kokkoide, gram-negative Stäbchen, die einzeln oder

paarweise gelagert im mikroskopischen Präparat erscheinen. *B. pertussis* und *B. parapertussis* sind unbeweglich, während *B. bronchiseptica* und *B. avium* peritrich begeißelt und dadurch beweglich sind.
Kolonien von *B. pertussis* sind klein, glatt und glänzend mit einer hohen Konvexität (wie eine Quecksilberperle). *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. bronchiseptica* können mit β-Hämolyse wachsen und lassen sich morphologisch nur schwer voneinander unterscheiden.

Pathogenese

B. pertussis überwindet die lokalen Immunmechanismen des oberen Respirationstraktes und kann bei völliger Gesundheit des Wirts ohne prädisponierende Faktoren eine Erkrankung auslösen.

Wenn die Erreger nach Übertragung durch Tröpfcheninfektion die Zilien des Flimmerepithels erreichen, binden sie dort im empfänglichen Wirt mittels verschiedener Adhäsine sehr fest und können dann durch die Freisetzung von Toxinen die Erkrankung auslösen.

Obwohl die Erreger in der Regel nicht über das Epithel hinaus in das Gewebe oder in die Blutbahn gelangen, also nicht invasiv sind, treten durch die produzierten Toxine dennoch systemische Effekte auf.
Neben der Kapsel, die dem Erreger einen Schutz vor der Inaktivierung durch Komplement bietet, lassen sich funktionell zwei Gruppen von **Virulenzfaktoren** unterscheiden: **Toxine**, die zu einer Schwächung der Abwehr beitragen, und **Adhäsine**, die ein Verbleiben der Erreger auf dem Wirt sicherstellen.

Von entscheidender Bedeutung für die Pathogenese des Keuchhustens ist das **Pertussis-Toxin (PT)**, ein Exotoxin. Dieses wurde früher wegen seiner verschiedenen biologischen Aktivitäten auch als „lymphocytosis-promoting factor" (LPF), „histamine-sensitizing factor" (HSF), „islet-activating protein", „pertussigen" oder „late-appearing factor" bezeichnet. PT ist für viele der physiologischen, immunologischen und pharmakologischen Effekte verantwortlich, die nach Injektion abgetöteter Zellen von *B. pertussis* zur Ausbildung gelangen. Hierzu gehören Leukozytose mit absoluter Lymphozytose, Splenomegalie, Hypoglykämie und Hyperinsulinismus, Hypoproteinämie, potenzierte Immunantwort gegenüber nichtverwandten Antigenen, Ausbildung einer anaphylaktischen Schockbereitschaft, verstärkte Empfindlichkeit für Histamin, Endotoxin und viele andere Stoffe, Resistenzsteigerung gegen bakterielle und virale Infektionen sowie prompte Induktion von experimentellen „allergischen" Erkrankungen.
Das Pertussis-Toxin ist aus sechs Untereinheiten (Hexamer) aufgebaut und zeigt Verwandschaft zu anderen Toxinen des A-B-Typs (s. Kap. 1.1) wie dem Choleratoxin, Shigatoxin oder Diphtherietoxin. Die eigentliche toxische Komponente (Monomer A) wird von fünf anderen Untereinheiten, die zusammen das Oligomer B bilden, stabilisiert. Letztere sind auch für die spezifische Bindung an die Zielzelle verantwortlich. Die A-Untereinheit ist eine ADP-Ribosyltransferase, die den Transfer der ADP-Ribose von Nicotinamid-Adenindinucleotid (NAD) an Proteine der Wirtszelle katalysiert. Daraus resultiert u.a. eine veränderte Signaltransduktion innerhalb der Epithelzelle. PT wird nur von *B. pertussis* gebildet. *B. parapertussis* und *B. bronchiseptica* besitzen zwar ein PT-Gen, jedoch wird die phänotypische Ausprägung durch Mutationen in der Promotorregion verhindert.
Adenylatzyklase (CyaA) ist ein Polypeptid mit einer Molekularmasse von 216 kDa, das in die Wirtszelle eindringen kann und dort zu einer unphysiologisch hohen Konzentration des cAMP-Spiegels führt. Das Molekül hemmt verschiedene Effektorfunktionen wie z.B. bei Makrophagen, Monozyten und polymorphkernigen Granulozyten die Bildung von Sauerstoffradikalen, die Phagozytose, die bakterizide Aktivität, die Phagosom-Lysosom-Fusion und die Chemotaxis. CyaA hemmt ferner die zytolytische Aktivität von NK-Zellen.
Tracheales Cytotoxin (TCT) wird aus dem Peptidoglykan der Zellwand gebildet. Es führt zur Stase der Zilienbewegung und im Tierversuch durch Stimulation einer Zytokinproduktion in der Mucosa zur Abtötung des Epithels der Trachea.
Ein weiteres Toxin ist das **hitzelabile Toxin**, auch *dermonekrotisches Toxin* genannt. Es wird von den Bakterien nicht aktiv sezerniert, sondern erst bei der Lyse der Zellen aus dem Zytosol freigestzt. Es besteht aus einer einzelnen Polypeptidkette, die bei subkutaner Injektion schon geringer Dosen zu Vasokonstriktion der peripheren Gefäße und Hautnekrose führt. Der molekulare Wirkungsmechanismus ist bisher nicht geklärt.
In der äußeren Membran der Bakterien befinden sich **Lipooligosaccharide (LOS)**, die chemisch und in ihrer Wirkung auf den Wirt den Lipopolysacchariden anderer gram-negativer Erreger ähnlich sind. Wie diese führen sie zur Induktion von Interleukin 1-Sekretion, Fieber, Blutdruckabfall und SANARELLI-SHWARTZMAN-Phänomen. Wenn auch die LOS bei der natürlichen Infektion keine Rolle zu spielen scheinen, so sind sie doch möglicherweise für einen Teil der unerwünschten Nebenwirkungen der zellulären Vakzine (Vollkeim-Impfstoff, siehe unten) verantwortlich.
Bordetella-Adhäsine: *Bordetella pertussis* besitzt einen ausgeprägten Tropismus für das Flimmerepithel der oberen Atemwege. Eine Reihe von Faktoren gewährleistet die Anheftung der Erreger an die Schleimhaut. Dazu gehört das **Filamenthämagglutinin (FHA)**, ein rutenförmiges Protein, das zu einer starken Anheftung der Erreger an die Zilien führt. Weil Antikörper,

die gegen FHA gerichtet sind, für eine Immunität von Bedeutung sind, enthalten die in Deutschland empfohlenen azellulären Impfstoffe adsorbiertes FHA als eines der Antigene.
Daneben besitzt *B. pertussis* verschiedene, antigenetisch unterschiedliche **Fimbrien (Pili)**. Diese sind für die weitere Stabilisierung der Anheftung an die Epithelzellen des oberen Respirationstraktes verantwortlich. Eine einzelne Zelle kann gleichzeitig zwei verschiedene Typen von Fimbrien tragen. Die meisten klinischen Isolate tragen Fimbrien der Typen 1, 2 oder 3, beziehungsweise Kombinationen dieser Typen. Auch Antikörper gegen die Fimbrienantigene korrelieren positiv mit einem Schutz vor Pertussis. Einige azelluläre Impfstoffe enthalten neben PT-Toxoid und FHA auch gereinigte Fimbrienbestandteile als Antigen.
Pertactin und **BrkA** (*B*ordetella *r*esistance to *k*illing) sind Membranproteine der äußeren bakteriellen Membran, die zur Bindung an die Wirtszellen beitragen. Spezifische Antikörper gegen Pertactin haben einen protektiven Effekt im Tiermodell und führten dazu, daß dieses Protein ebenfalls als Komponente in einigen Impfstoffen Verwendung findet.
Die **Expression der Virulenzfaktoren** unterliegt wie bei vielen anderen Erregern auch einer vielschichtigen Steuerung. Eine schon früh beobachtete Änderung des Virulenzverhaltens wird phänotypisch als **Phasenvariation** beschrieben. Sie tritt in einer Frequenz von 10^{-4} bis 10^{-6} spontan auf und geht mit dem Verlust der Produktion einer Reihe von Virulenzfaktoren und Oberflächenproteinen einher. Auf diese Weise vermögen die Erreger die Ausprägung der Virulenz an ihre äußeren Bedingungen und damit an den jeweiligen Schritt des Infektionsablaufs anzupassen.

Klinik

Der **Keuchhusten**, der durch *B. pertussis* ausgelöst wird, verläuft nach der Inkubationszeit von 7 bis 10 Tagen typischerweise in drei Phasen (Tab. 4.27).
Das **Stadium catarrhale** dauert 1–2 Wochen und ist relativ symptomarm mit subfebrilen Temperaturen und uncharakteristischem Husten.
Das nachfolgende **Stadium convulsivum**, das 4–8 Wochen, in Ausnahmefällen bis zu 20 Wochen andauern kann, zeigt die typische klinische Symptomatik. Nach anfallsartigem Husten mit mehreren Hustenstößen kommt es zu einem hörbaren inspiratorischen Stridor und zu anschließendem Erbrechen. Durch Wiederholung der Hustenstöße in kurzen Abständen entwickelt sich eine zunehmende Zyanose bis zur Gefahr der exspiratorischen Apnoe mit Atemstillstand. Die Zahl der Hustenanfälle kann zwischen 5–50 pro Tag schwanken, mit besonderer Häufung während der Nachtstunden. Säuglinge entwickeln an Stelle des typischen Hustens häufiger Apnoeattacken und sind durch diese besonders gefährdet. Die *Letalität* in der Altersgruppe unter 1 Jahr beträgt 0,6%.
Das **Stadium decrementi** ist durch abnehmende Häufigkeit und Schwere der Hustenanfälle gekennzeichnet. Nach einer Phase der deutlichen Besserung kann jedoch durch interkurrente Atemwegsinfektionen eine Wiederkehr der klinischen Symptomatik ohne mikrobiologisch faßbaren Rückfall oder Reinfektion erfolgen .

> Eine Pneumonie ist eine häufige Komplikation (ca. 25% der Fälle) und für etwa die Hälfte der Todesfälle als Folge der *B. pertussis*-Infektion verantwortlich.

Nicht selten werden bei Säuglingen und Kleinkindern langandauernde Bronchiolitiden beobachtet. Am gefürchtetsten ist aber die gelegentlich auftretende **Enzephalopathie**, da sie mit hoher Letalität und großer Defektheilungsquote belastet ist. Die neurologischen Komplikationen

Tab. 4.27 Klinische Stadien der Pertussis

Stadium der Erkrankung	I Inkubationszeit	II Stadium catarrhale	III Stadium convulsivum	IV Stadium decrementi
Dauer in Wochen	1–2	1–2	2–6	3–4
Symptomatik	keine	Rhinorrhoe Rhinopharyngitis Konjunktivitis uncharakteristischer Husten subfebrile Temperatur	anfallsartiger Husten Erbrechen Zyanose Apnoeattacken	abnehmende Hustenfrequenz und Intensität Bronchitis

können sowohl Folge der Hypoxie als auch einer

typisch und führt häufig zu einer ersten Ver-



rate der Erregeranzucht sinkt deutlich bei antibiotisch (Erythromycin oder Trimethoprim-Sulfamethoxazol) vorbehandelten Patienten, bei verzögerter Anlage des Abstrichmaterials, bei lange zurückliegendem Beginn der Symptomatik (> 3 Wochen) und bei geimpften Patienten.

Kultur: *Bordetella*-Arten sind strikte Aerobier mit recht einfachen Anforderungen an Nährböden. Dazu gehört ein Angebot an Nikotinsäureamid, Zystin oder Zystein und weiteren Aminosäuren als Stickstoffquelle. Sie sind jedoch nicht von den Faktoren X und V abhängig (vgl. *Haemophilus*, Kap. 4.8). Schwierigkeiten bei der Anzüchtung von *B. pertussis* beruhen v.a. auf der Wachstumshemmung durch Begleitstoffe im Nährboden, wie z.B. ungesättigte Fettsäuren, Metallionen, kolloidaler Schwefel und Peroxide. Auf der Unschädlichmachung dieser „Inhibitoren" durch Bindung an Stärke, Aktivkohle, Albumin, Blut, Cyclodextrin oder andere Substanzen beruht die erhöhte Ausbeute beim Einsatz von Spezialnährböden wie dem von BORDET und GENGOU 1906 beschriebenen Kartoffel-Glyzerin-Blut-Medium.

Das Wachstum von *B. pertussis* ist mit einer Generationszeit von 2,5 bis 5 Std. unter optimalen Bedingungen recht langsam und erfordert deshalb eine 3–4 tägige Bebrütung bei 37°C zur Ausbildung von Kolonien. Eine ausreichende Feuchtigkeit über dem Nährboden ist für eine erfolgreiche Anzüchtung wichtig, da die Bakterien sehr empfindlich gegenüber Austrocknung sind. Die Nährböden sind mindestens für eine Dauer von sieben Tagen zu bebrüten, bevor ein negatives Kulturergebnis mitgeteilt werden kann.

Ein klinischer Pertussis-Fall wird diagnostisch durch eine positive *B. pertussis*-Kultur gesichert. Die definitive Identifizierung der angezüchteten Bakterien als *Bordetella pertussis* wird durch den direkten Immunfluoreszenztest (s.u.) oder durch Agglutination mit spezifischen, kommerziell erhältlichen Seren erreicht.

Biochemisches Verhalten: Bordetellen besitzen das Enzym Katalase, sind aber ansonsten biochemisch relativ inaktiv. Ihre Differenzierung mittels Prüfung auf bestimmte biochemische Leistungen und Wachstumseigenschaften ist dennoch möglich (Tab. 4.28)

Die **direkte Immunfluoreszenz** (**DFA**, direct fluorescent antibody testing) von Nasopharyngealabstrichen ist zum Screening (Suchtest) von Pertussisfällen geeignet und erfasst je nach verwendetem Antiserum *B. pertussis* oder *B. parapertussis*. Da die Sensitivität und Spezifität sehr stark von der Erfahrung des Untersuchers abhängig und insgesamt eher niedrig sind, bedarf es zusätzlich mindestens eines weiteren Nachweisverfahrens. Die schnelle Durchführbarkeit macht diesen Test jedoch für klinische Fragestellungen interessant.

Die Schnelligkeit des Nachweises ist ebenfalls ein Vorteil der **Nukleinsäureamplifikationsverfahren (PCR)**. Sensitivität und Spezifität erwiesen sich in kleineren Studien als erfreulich hoch, größere Evaluationsstudien stehen noch aus. Gegenwärtig sollte dieser Test nur in Verbindung mit dem kulturellen Nachweis oder dem Nachweis von spezifischen Antikörpern zur Bestätigung der Verdachtsdiagnose genutzt werden. Selbst wenn evaluierte PCR-Verfahren zur Verfügung stehen, sollte weiterhin zusätzlich die Anzüchtung der Erreger angestrebt werden, um eine Testung der Empfindlichkeit für Antibiotika und eine molekulare Typisierung für epidemiologische Zwecke zu ermöglichen.

Serologische Diagnostik: Der Nachweis von *B. pertussis*-spezifischen Antikörpern hat erst in den letzten Jahren zunehmende Bedeutung für die Diagnostik des Keuchhustens erlangt. Humorale Antikörper werden frühestens 15–25 Tage nach Erkrankungsbeginn nachweisbar und erreichen 6–8 Wochen später, also 8–10 Wochen nach Erkrankungsbeginn, ihr Maximum. Die Anwendung enzymimmunologischer Verfahren (ELISA) gestattet in fast allen Fällen nach Infektion den

Tab. 4.28 Differenzierungskriterien von Bordetellen

	B. pertussis	*B. parapertussis*	*B. bronchiseptica*	*B. avium*
Beweglichkeit	–	–	+	+
Wachstum auf Peptonagar	–	–	+	+
Pigmentproduktion	–	+	–	–
Nitratreduktion	–	–	+	–
Harnstoffspaltung	–	+	+	–
Oxidasereduktion	+	–	–	(+)

+ = nachweisbar
(+) = bei 50–75% der Stämme nachweisbar
– = nicht nachweisbar

4

postvakzinale Enzephalopathien beobachtet. Aus medizinischer Sicht sind Impfraten von > 90% anzustreben, um einen Kohortenschutz aufzubauen, der einen maximalen Schutz der besonders gefährdeten Kinder in den ersten Lebensmonaten bietet.

Weder die Impfung noch die Erkrankung garantiert einen lebenslangen Schutz vor einer Infektion durch Bordetella pertussis.

Dies hat zur Folge, daß auch bei hoher Impfrate der Kinder der Erreger weiterhin unter den Erwachsenen zirkulieren kann. Erwachsene erkranken seltener und weniger schwer als Kinder oder gar Säuglinge, spielen aber als Infektionsquelle für Kinder in ihrer Umgebung eine Rolle. Das Ziel einer **dauerhaften Eliminierung** dieser Erkrankung würde folglich mehrfache Wiederimpfungen bei den Jugendlichen und Erwachsenen erfordern; dies wird unter Experten gegenwärtig diskutiert. Vorerst ist an eine vollständige Elimination der Pertussis nicht zu denken.
Eine **prophylaktische Impfung** bzw. Boosterung von Kontaktpersonen ist z.Zt. nicht üblich. Gegen Pertussis geimpfte Kinder können nach Keuchhustenkontakt vorübergehend *Bordetella* abhusten. Ein langdauernder Trägerstatus bei Gesunden ist bisher nicht dokumentiert worden.
Chemoprophylaxe: Die Ausbreitung des Keuchhustens kann durch antibiotische Behandlung der Erkrankten und der Personen mit innigem Kontakt eingedämmt werden. Als Personen mit „innigem Kontakt“ sind jene anzusehen, die mit dem gesicherten Pertussis-Fall Speichelkontakt z.B. über gemeinsam benutztes Eßgeschirr hat-

die gleichen Virulenzfaktoren wie *B. pertussis* verfügt, ist dieses Toxin wahrscheinlich nicht ursächlich für die typischen klinischen Erscheinungen verantwortlich.

4.12.3 Bordetella bronchiseptica und Bordetella avium

Das natürliche Habitat von *B. bronchiseptica* ist der Respirationstrakt von kleineren Tieren wie Kaninchen, Katzen und Hunden. *B. avium* wird meist bei Truthühnern, die an einer Rhinotracheitis leiden, gefunden. Dementsprechend verursachen *B. bronchiseptica* und *B. avium* bevorzugt bei derartigen Tieren Pneumonien und andere respiratorische Erkrankungen. Infektionen des Menschen sind extrem selten.

Literatur

EDWARDS, K. M.: Pertussis in older children and adults. Adv. Pediatr. Infect. Dis. 13 (1997) 49–77

HEWLETT, E. L.: Bordetella species. In: MANDELL, G. L., J. E. BENNETT and R. DOLIN (eds.) Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed., Churchill Livingstone, New York, NY, 1995, Vol. 2, pp. 2078–2084

Hoppe, J. E.: Bordetella. In: MURRAY, P. R., E. J. BARON, M. A. PFALLER, F. C. TENOVER and R. H. YOLKEN (eds.): Manual of Clinical Microbiology. 7th ASM Press, Washington, DC, 1999, 614–624

4.13 Die Gattung Francisella – Tularämie

zialnährböden und die Erarbeitung der serologischen Diagnostik ist (ab 1919) das Verdienst von E. FRANCIS.

4.13.1 Eigenschaften

Systematik

Zur Gattung *Francisella* gehören zwei Arten: *F. tularensis* und die 1951 in Utah aus Wasser als „Pasteurella novicida" isolierte *F. novicida*, die experimentell bei Mäusen, Meerschweinchen und Hamstern eine tularämieähnliche Erkrankung hervorruft. Für Kaninchen, Laborratten und Tauben ist der Keim apathogen, Erkrankungen des Menschen wurden in wenigen Fällen bei Immunsupprimierten beobachtet.

Francisella tularensis tritt in zwei Biovarietäten auf: die hochinfektiöse *F. tularensis* Biovar *tularensis* in Nordamerika und die weniger virulente, in Europa, Nord-, Mittel- und Südamerika vorkommende Biovar *palaearctica.*

Morphologie

Mikroskopisch: *F. tularensis* ist ein kleines (0,3–0,5 × 0,2 µm), gram-negatives, unbewegliches, nichtsporenbildendes, bekapseltes Bakterium. Die Keime färben sich bipolar an und weisen eine ausgesprochene Pleomorphie auf, vor allem in älteren Kulturen. Im Gewebe sind die Keime mit Fluoreszein-markierten Antikörpern nachzuweisen.
Kultur: *F. tularensis* wächst obligat aerob und ist auf den gewöhnlichen Nährmedien nicht anzüchtbar. Geeignet sind koagulierte Eigelbnährböden nach MACCOY und CHAPIN oder Glukose-Zystin-Blutagar nach FRANCIS. Das Wachstumsoptimum liegt bei 37 °C. Bei der Erstisolierung muß bis zu 14 Tagen gewartet werden, Subkulturen gehen nach 2–5 Tagen an. Auf FRANCIS-Agar bilden die Tularämiebakterien rundliche, feuchte, grauweiße, anfangs 1–1,5, nach einigen Tagen 3–4 mm große Kolonien, auf Eiernährböden wachsen sie als tautropfenähnliche Kolonien und behalten die Virulenz länger als auf FRANCIS-Agar.

4.13.2 Pathogenese

Francisella tularensis wird zu den für den Menschen am virulentesten Mikroorganismen gerechnet, weshalb bei Arbeiten im Laboratorium besondere Vorsichtsmaßnahmen erforderlich sind. Die Ursachen für diese außergewöhnliche Virulenz sind, mit Ausnahme der antiphagozytär wirkenden Kapsel, unbekannt. Nach dem Eindringen in den Wirt befallen die Tularämieerreger das retikuloendotheliale System, es kommt vermutlich zur Bakteriämie. In den Lymphknoten (und in anderen befallenen Organen) bilden sich Granulome.
Francisellen können in Makrophagen und polymorphkernigen Leukozyten überleben und sich vermehren, wodurch sie vor den normalen Abwehrkräften des Organismus – Destruktion, Lyse durch Antikörper und Komplement – sowie vor der Antibiotika-Einwirkung relativ geschützt sind.

4.13.3 Klinik

Die Tularämie ist auch unter den Bezeichnungen Hasenpest, in den USA als FRANCIS Disease, Market Men's Disease, Deer Fly Fever (deer fly = Bremsen), in Norwegen als Lemmingfieber und in Japan als OHARA Disease bekannt.
Die **Inkubationszeit** beträgt 3–5 (1-10) Tage. In Abhängigkeit von der Eintrittspforte entwickelt sich:

- eine **äußere Tularämie** (mit sichtbarer Primärläsion):
- kutano-glanduläre (ulzero-glanduläre) Form
- okulo-glanduläre Form
- oral-glanduläre Form
- eine **innere Tularämie**:
- thorakale (pulmonale) Form
- abdominale (typhöse) Form.

Die Erkrankung beginnt abrupt mit hohem Fieber, Schüttelfrost, (Stirn-)Kopfschmerzen, Rücken- und Gliederschmerzen.
Bei Erregereintritt über die **Haut** (direkter Kontakt, Insektenbiß) tritt am Ende der Inkubationszeit am Infektionsort eine Papel auf, die nach 7–8 Tagen ulzerieren kann. Die regionalen Lymphknoten (Achsel-, Hals-, Leistenregion) schwellen an und können abszedieren.
Dringen die Erreger über die **Konjunktiven** ein, entsteht als Primäraffekt eine PARINAUDsche Conjunctivitis (eine follikulär-ulzeröse PARINAUDsche Conjunctivitis wird auch bei Katzenkratzkrankheit, bei boviner Tuberkulose, bei Infektionen mit Newcastle Disease Virus, BOECK-Sarkoid u.a. beobachtet).
Bei Eintritt über den **Mund** können dort lokal aphthenartige Veränderungen oder Ulzerationen (z.B. an den Tonsillen) auftreten. Diese Form bildet gleichsam einen Übergang zur **abdominalen (typhösen) Form**, die je nach Organ-

befall klinisch mit Bauchschmerzen einhergeht, zu Durchfall oder Obstipation, teilweise auch zu ileusartigen Symptomen führt. Es kommt zu intermittierenden Fieberschüben.
Werden die Francisellen per Aerosol in die **Lunge** aufgenommen oder erreichen sie diese auf hämatogenem Wege, kann es zur Ausbildung der **thorakalen Form** kommen, die sich als trockener, unproduktiver Husten äußert und die im Röntgenbild nur schwer in Form pneumonischer Infiltrate mit Vergrößerung der Hiluslymphknoten zu erfassen ist; teilweise ist die Pleura beteiligt.
Differentialdiagnostisch ist an Tuberkulose zu denken, an Grippe, Typhus, infektiöse Mononukleose, Pneumonien anderer Genese. Fieber und Tachykardie können sich über Monate erstrecken, Komplikationen sind selten.

4.13.4 Laboratoriumsdiagnose

Der direkte Erregernachweis aus der Primärläsion kann mit Fluoreszein-markierten Antikörpern versucht werden.
Die Anzucht der Keime erfordert wegen ihrer besonderen Wachstumsansprüche die oben genannten **Spezialnährböden.** Als **Untersuchungsmaterial** dienen z.B. Abstriche von der Primärläsion, Eiter, Biopsiematerial von Lymphknoten, Konjunktivalabstriche, Sputum.
Mit dem **Tierversuch**, subkutane Injektion des Materials bei Meerschweinchen, können auch geringe Keimzahlen erfaßt werden, da bereits 1–5 Keime den Tod des Tieres nach 2–10 Tagen herbeiführen. Aus Leber, Milz und Herzblut können die Erreger dann angezüchtet werden. Bei der Obduktion zeigt sich die Milz des Tieres 4–5mal vergrößert und mit zahlreichen kleinen, grauen Nekroseherden durchsetzt.
Bei der hohen Infektiosität sind für Kultur- und Tierversuche besondere Schutzmaßnahmen zu treffen!
Die **Identifizierung** der Keime erfolgt am besten durch Objektträgeragglutination mit spezifischen Antiseren oder durch fluoreszeinmarkierte Antikörper. Für die Obejektträgeragglutination wird die Kolonie der Infektionsgefahr wegen in physiologische Kochsalzlösung mit Zusatz von 0,5% Formalin eingerieben.

Antikörpernachweis

Der Antikörpernachweis im Patientenserum wird als Röhrchen-Agglutinationstest oder, zuverlässiger, als Mikroagglutinationstest durchgeführt. Sofern keine frühere Tularämie-Infektion vorlag, gilt ein Titer ab 1 : 40 als sehr verdächtig, die Diagnose muß aber durch den 4fachen Titeranstieg in einer später entnommenen Serumprobe bestätigt werden. Erste erhöhte Titer treten in der 2. Krankheitswoche auf, die danach auf 1: 320 und höher steigen.
Für den Antikörpernachweis steht auch ein ELISA zur Verfügung, der mit ultraschallbehandelten Tularämiebakterien (Sonicat) als Antigen arbeitet und mit dem getrennt *F. tularensis*-Antikörper der Klassen IgM, IgG und IgA nachweisbar sind. Ältere Verfahren sind die indirekte Hämagglutination und die Komplementbindungsreaktion.

4.13.5 Therapie

Das Mittel der Wahl ist für alle Tularämieformen Streptomycin 1,0 g tgl. i.m. für 10–14 Tage (mindestens bis 5 Tage nach Entfieberung). Empfehlenswert ist auch die Kombination von Streptomycin und Doxycyclin. In den USA wird teilweise auch Gentamicin empfohlen. Tetracyclin und Chloramphenicol sind auch wirksam, führen aber zu häufigeren Rückfällen.

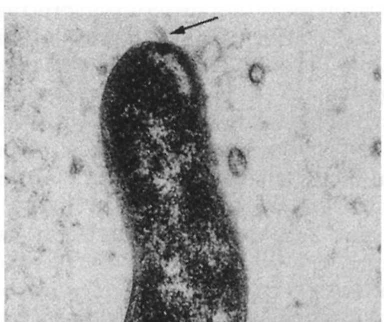
4.13.6 Epidemiologie und Bekämpfung

Die Tularämie ist eine Zoonose, die in Naturherdgebieten (in Deutschland: Mecklenburg, Schleswig-Holstein, Mainfranken) gelegentlich auf den Menschen übertragen wird. Die Erkrankungszahlen sind in der Bundesrepublik Deutschland rückläufig; 1998 wurden drei und 1999 zwei Erkrankungen gemeldet. Höher liegen die Zahlen in den USA (5–36/1 Million Einwohner), in den Staaten der ehemaligen Sowjetunion und in Japan. In Europa treten Fälle u.a. in Norwegen, der Tschechischen Republik und Slowakei, in Österreich und in der Schweiz auf.
Als Reservoire sind mehr als 100 Säugetierarten bekannt, zudem Vögel, Reptilien, Fische und Insekten. In Deutschland sind Hasen und Wildkaninchen die häufigsten Infektionsquellen für den Menschen.
Als Vektoren bei tierischen Infektionen kommen vor allem Zecken und blutsaugende Fliegen (Bremsen) in Betracht.
In Europa tritt die Mehrzahl der Infektionen des Menschen nach direktem (Haut-) Kontakt mit erkrankten Tieren (Blut, Organe) auf, z.B. bei

4

5 µm groß (Abb. 4. 32). In älteren Kulturen können sich kokkoide Degenerationsformen ausbilden. Die Bakterien tragen uni- oder bipolar jeweils eine Geißel und zeigen eine lebhafte korkenzieherartige Beweglichkeit.

Biologie: Bakterien der Gattung *Campylobacter* wachsen mikroaerophil, d. h. in Gegenwart von etwa 5 % Sauerstoff. Sie werden sowohl durch eine aerobe als auch durch eine anaerobe Atmosphäre im Wachstum gehemmt; dies hat wichtige Konsequenzen für die mikrobiologische Diagnose von *Campylobacter*-Infektionen. Die Bakterien sind Oxydase-positiv, reduzieren in der Regel Nitrat und verwenden Aminosäuren und Intermediärprodukte des Tricarbonsäurezyklus als Energiequelle. Kohlenhydrate werden weder fermentiert noch oxidiert; die meisten Spezies bilden Katalase. Campylobacter besitzen ein mit 1500–1700 kb vergleichsweise kleines Genom.



Toxine. Sowohl **Zytotoxine** als auch ein Choleratoxin-ähnliches **Enterotoxin** sind bei *C. jejuni*- und *C. coli*-Stämmen beschrieben worden. Die Bedeutung dieser Toxine für die Pathogenese ist umstritten.

Antigenstruktur. Campylobacter besitzen **thermostabile** und **thermolabile** Oberflächenantigene, die bei *C. jejuni/coli* eine Einteilung in 65 bzw. 160 Serogruppen erlauben. Sie werden nach PENNER durch passive Hämagglutination (hitzestabile Antigene) und nach LIOR durch Objektträgeragglutination mit absorbierten Antiseren (hitzelabile Antigene) nachgewiesen und haben in erster Linie Bedeutung zur Aufklärung von Infektketten. Bei *C. fetus* werden aufgrund hitzestabiler Antigene 3 Serogruppen (A, B, C) unterschieden. *C. fetus* und *C. rectus* besitzen eine Mikrokapsel aus einem sog. **s-layer Protein**, das Serum- und Phagozytoseresistenz vermittelt.

Pathogenese

Bereits eine Infektionsdosis von 500 Erregern, z. B. in Milch aufgenommen, kann beim Menschen zu einer *Campylobacter*-**Enterokolitis** führen. Die **Motilität** des Erregers scheint dabei ein wichtiger Virulenzfaktor zu sein, die es zusammen mit seiner Spiralform erlaubt, sehr schnell die schützende Mukusschicht der Darmschleimhaut zu passieren und wahrscheinlich über Geißelstrukturen, aber auch Oberflächenproteine und -polysaccharide, am Epithel von Jejunum und Colon zu adhärieren. Für den weiteren Verlauf der Pathogenese spielen chemotaktische Faktoren, möglicherweise toxische Effekte, eine Zellinvasivität sowie eine Schleimhautdurchwanderung mit nachfolgender submuköser Entzündung (wie bei Salmonellen) eine bisher nicht genau definierte Rolle.

C. fetus zeigt Merkmale eines fakultativ pathogenen Erregers, da vorwiegend **resistenzgeschwächte Patienten** an typischen **extraintestinalen Manifestationen** wie Sepsis oder Meningitis erkranken.

Über die Pathogenese der *C. fetus*-Infektion ist

krümmtes Stäbchen") verursachen zwei große Gruppen von Erkrankungen, nämlich eine **akute Enterokolitis** des Menschen und **fetale** und **enterale Infektionen** bei **Rind, Schaf** und **Schwein**. Einige *Campylobacter* spp. werden auch bei **Parodontitis** des Menschen vermehrt gefunden.

Infektionen: Die wichtigsten menschenpathogenen Spezies zur Gattung *Campylobacter* im engeren Sinne sind:

- die Durchfallserreger *C. jejuni* (verantwortlich für ca. 90 % aller *Campylobacter*-Infektionen des Menschen), *C. coli*, *C. upsaliensis* und *C. lari*;
- *C. fetus* als Ursache überwiegend extraintestinaler Infektionen (s.Tab. 4.29);
- *C. curvus, C. rectus, C. showae* und *C. gracilis*, letzterer unbegeißelt, finden sich in Zahnfleischtaschen und werden mit der Parodontitis in Verbindung gebracht.

Weitere Spezies sind *C. sputorum* und *C. concisus*, beides harmlose Kommensalen der Mundhöhle, sowie *C. hyointestinalis* und *C. mucosalis;* letztere verursachen beim Schwein eine nekrotisierende Enterokolitis.

C. jejuni ist weltweit eine der häufigsten Ursachen der bakteriellen **Enteritis** und **Enterokolitis.** Andere darmpathogene Campylobacterarten sind von untergeordneter Bedeutung.

Die Inkubationszeit beträgt 2–11 Tage, bei *C. jejuni* im Mittel 2–5 Tage. Nach einem **Prodromalstadium** von 12–24 Stunden mit unspezifischem Krankheitsgefühl, Frösteln und häufig quälenden Kopf- und Gliederschmerzen kommt es am ersten Krankeitstag häufig zu einem plötzlichen *Fieberanstieg* mit Temperaturen, die 40 °C erreichen können. Kopf- und Gliederschmerzen halten an, krampfartige abdominelle Schmerzen, Schwindel und andere Kreislaufsymptome, selten Erbrechen, kommen hinzu. Im **fieberhaften Frühstadium** können offenbar auch passagere Bakteriämien auftreten. Sehr schwere Fälle können unter dem Bild eines „akuten Abdomens" zur Krankenhauseinweisung führen. Gelegentlich ist das akute Stadium von schweren Arthralgien begleitet.

Die **Diarrhoe** beginnt meist explosiv und steigert sich auf bis zu 20 Entleerungen pro Tag. Die Stuhlbeschaffenheit ist stets wässrig, in bis zur Hälfte der Fälle auch schleimig und mit blutigen Auflagerungen; mikroskopisch sind in der Regel massenhaft Leukozyten nachweisbar. Die Durchfälle sistieren meist nach 5–7 Tagen, nur selten beträgt die Krankheitsdauer über 10 Tage. Die mittlere Ausscheidungsdauer der Erreger nach Abklingen der akuten Symptomatik ist mit 14 Tagen deutlich kürzer als die der Salmonellen, eine Langzeitausscheidung ist mit Ausnahme von AIDS-Patienten extrem selten. Mischinfektionen mit anderen enteropathoge-

Tab. 4.29 Für den Menschen bedeutsame *Campylobacter*- und *Arcobacter*-Spezies

Spezies	Krankheitssymptome	Nachweis in	Häufigkeit	wichtigstes natürliches Reservoir
C. fetus	Septikämie, Meningitis	Blut	seltener	Schaf, Rind
C. jejuni, ssp. jejuni	Enterokolitis, GBS, Septikämie	Faeces	häufig	Vögel (v.a. Geflügel), Rind, Wasser
C. jejuni, ssp. doylei	Diarrhoe, Sepsis	Faeces	selten	Mensch
C. coli	Enterokolitis, GBS	Faeces	seltener	Schwein, Rind, Schaf, Geflügel
C. lari	Diarrhoe	Faeces	selten	Hund, Katze, Vogel, Wasser
C. upsaliensis	Diarrhoe, Sepsis	Faeces	selten	Hund, Katze
C. helveticus	Diarrhoe	Faeces	sehr selten	Hund, Katze
C. curvus	Parodontitis	Mundhöhle	häufig	Mensch
C. rectus	Parodontitis	Mundhöhle	häufig	Mensch
C. showae	Parodontitis	Mundhöhle	häufig	Mensch
A. butzleri	Diarrhoe, Sepsis	Faeces	sehr selten	Geflügel, Wasser

nen Erregern kommen vor. Sehr selten kann *C. jejuni* auch extraintestinale Infektionen wie Septikämie bei Abwehrschwäche, septischen Abort, Cholezystitis oder Meningitis, letztere beim Neugeborenen, verursachen.

Folgekrankheiten. Zwei bis drei Wochen nach dem Beginn einer *Campylobacter*-Enteritis können aseptische reaktive Arthritis, das REITERsche Syndrom, Hautexantheme oder als gravierendste Komplikation ein GUILLAIN-BARRÉ-Syndrom auftreten. Patienten mit einer reaktiven Arthritis können als ätiologischen Hinweis eine Antikörperreaktion gegen *Campylobacter* zeigen; die *Campylobacter*-Arthritis – meist sind große Gelenke befallen – kann Wochen bis Monate andauern. Das GUILLAIN-BARRÉ-Syndrom, eine aufsteigende Parese bis hin zur Atemlähmung, wird nach 1–3 ‰ der manifesten Campylobacteriosen beobachtet und kann bis zur meist unvollständigen Restitution über ein Jahr benötigen.

C. fetus verursacht beim Menschen verschiedene, in der Regel extraintestinale Infektionen, die am ehesten durch passagere oder chronische Bakteriämien mit sekundären Organabsiedlungen zu erklären sind. Neben einer fieberhaften Septikämie können deutlich seltener Meningitis, Endokarditis, Phlebitis, Arthritis, Abszesse oder ein fieberhafter Abort, letztere mit oder ohne Erregernachweis aus dem Blut, das klinische Bild bestimmen. *C. fetus*-Infektionen des Menschen sind eher selten und werden vor allem bei vorgeschädigten Patienten beobachtet. **Prädisponierende Faktoren** sind z.B. Leukämien, Leberzirrhose, Neoplasien, Diabetes, kardiovaskuläre Grundleiden, Alkoholismus und immunsuppressive Therapie. Vermehrtes Vorkommen bei AIDS-Patienten wurde bisher nicht beobachtet.

Bei Schafen, seltener bei Rindern, verursacht ***C. fetus*** sporadisches, fieberhaftes Verwerfen.

Laboratoriumsdiagnostik

Erregernachweis: Bei Enteritis ist die Untersuchung von *Stuhlproben* – möglichst frühzeitig im akuten Stadium – am aussichtsreichsten. Bei hohem Fieber können Erreger auch aus Blutproben isoliert werden. Stuhlproben sollten bei längeren Versandwegen (> 24 Std), Rektalabstriche und Biopsate immer in Transportmedium zum Labor transportiert werden. Kühlung des Untersuchungsmaterials bis zur Verarbeitung verbessert die Nachweissicherheit.

Bei extraintestinalen Infektionen sind, abhängig vom klinischen Bild und der vermuteten Erregerlokalisation, Blutkulturen, Liquor, Biopsiematerial oder Punktate geeignet.

Stuhlproben: Stuhlproben werden direkt auf bluthaltige oder spezielle Charcoal-haltige Selektivnährböden ausgeimpft, denen verschiedene Antibiotikakombinationen zur Unterdrückung der begleitenden Stuhlflora zugemischt sind. Die Inkubation erfolgt in der Regel für 44 Std. bei 37 °C in einem *mikroaerophilen Gasgemisch* aus 5 % O_2, 10 % CO_2 und 85 % N_2. Die 1–3 mm großen, durchscheinenden Kolonien gleichen verspritzten Flüssigkeitströpfchen und ziehen sich oft entlang des Impfstrichs. Die vorläufige Identifizierung erfolgt *mikroskopisch* im Phasenkontrastpräparat, sowie durch die positive *Oxidase*- und die *Katalasereaktion*.

Zur Unterscheidung menschenpathogener *Campylobacter*-Spezies in der mikrobiologischen Diagnostik werden in erster Linie die Katalasereaktion, die Nitratreduktion, die Hippurat-Hydrolyse, die Indoxylacetat-Hydrolyse, die Harnstoffspaltung und das Wachstum bei unterschiedlichen Temperaturen herangezogen.

Die ätiologische Diagnose einer *Campylobacter*-Infektion kann nur mikrobiologisch gestellt werden.

Antikörpernachweis: Einige Tage nach Krankheitsbeginn treten Serumantikörper auf. Zum Nachweis können eine **Komplementbindungsreaktion (KBR),** allerdings geringer Sensitivität, sowie **ELISA**-Verfahren mit Antigenextrakten durchgeführt werden. Wegen der starken antigenen Heterogenität der Stämme ist die *Campylobacter*-Serologie bis heute noch nicht als serologische Routinemethode eingeführt.

Therapie

Die unkomplizierte *Campylobacter*-Enteritis verläuft selbstlimitierend, sie sollte lediglich **symptomatisch**, d.h. mit Flüssigkeits- und Elektrolytersatz, mit Bettruhe und ggf. leichten Spasmolytika behandelt werden.

Bei **schweren Verläufen** ist ist eine antimikrobielle Therapie angezeigt, Mittel der Wahl ist Erythromycin. Die Resistenzquote gegen Erythromycin beträgt in verschiedenen Ländern, abhängig von der Häufigkeit der Anwendung, 1–20 %, in Deutschland etwa 1–9 % und liegt bei *C. coli* durchweg höher als bei *C. jejuni*.

Weitere therapeutische Möglichkeiten bieten Tetracyclin (5–25 % resistent) und, insbesondere bei septikämischen Verläufen, Aminoglykoside, z.B. Gentamicin.

Gegen Trimethoprim und Cephalosporine, mit Ausnahme von Cefotaxim, sind alle *C. jejuni* resistent, ein Großteil der Stämme bildet β-Laktamasen.

Die 4-Fluoro-Chinolone (Gyrase-Hemmer) sind

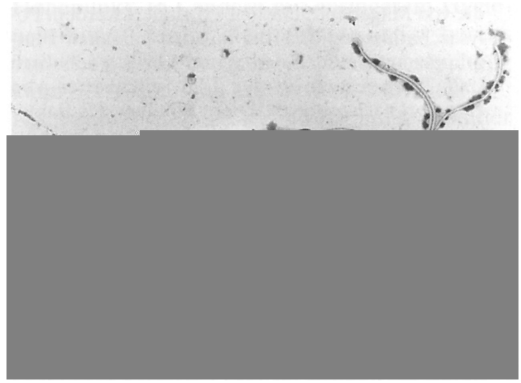
konnten Massenerkrankungen auf nicht chlorierte **Oberflächenwässer** zurückgeführt werden. Touristen in warmen Ländern gehen ebenfalls ein erhöhtes Risiko ein, eine *Campylobacter*-Infektion zu akquirieren.

Die Epidemiologie der menschlichen *C. fetus*-Infektion ist bis heute unklar.

Überlebensfähigkeit der Keime: *Campylobacter* werden bei einem pH < 5,0 oder > 9,0 inaktiviert.

Auf feuchten Oberflächen (z.B. Schlachtgeflü-

4



die von Magenepithelzellen exprimiert werden. Polysaccharidstrukturen, die mit den humanen Blutgruppenantigenen Lewis x und Lewis y identisch sind, wurden auch in den LPS-Seitenketten von *H. pylori* nachgewiesen. Diese **Mimikry** des Bakteriums mit wirtseigenen Strukturen könnte einer erfolgreichen Immunabwehr entgegenwirken. Die Infektion induziert sowohl eine lokale als auch eine systemische **humorale Immunantwort**, ohne dabei eine wirksame Elimination des Erregers bewirken zu können.

Über die Rolle der zellulären Immunreaktion besteht noch keine einheitliche Auffassung. Folge der **chronischen Schleimhautbesiedlung** ist eine entzündliche **granulozytäre**, später monozytäre **Infiltration des Epithels**, die über Entzündungsmediatoren wiederum zur Gewebedestruktion beiträgt. Die Intensität der Entzündungsreaktion und die Induktion von Entzündungsmediatoren ist korreliert mit der Präsenz eines Proteins (*CagA*), das vom sog. *C*ytotoxin-*a*ssoziierten *G*en *cag*A codiert wird. Dieses Gen gilt als Marker für das Vorhandensein einer sog. **Pathogenitätsinsel cag.** Derartige DNA-Regionen wurden zuerst bei *Enterobacteriaceae* entdeckt, und umfassen Gene, die für Virulenzfaktoren kodieren. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß die *cag*-Gene anscheinend für einen mikrobiellen sog. Typ IV Sekretionsapparat kodieren, mit dessen Hilfe das CagA-Protein in eukaryote Zellen „injiziert" wird. Dort findet eine Tyrosinphosphorylierung des Proteins statt, welches dann wiederum als Startpunkt für eine Reihe für die Pathogenität bedeutsamer intrazellulärer Signalwege fungieren kann.

Klinik

H. pylori, die für den Menschen wichtigste Spezies, besiedelt weltweit etwa 50 % der Bevölkerung, mit der höchsten Prävalenz in Entwicklungsländern.
Gegenwärtig sind bei Mensch und Säugetieren eine Reihe von *Helicobacter*-Spezies bekannt (s. Tab. 4.30), die im Magen bzw. im Darm gefunden werden. Für den Menschen hat *H. pylori* die weitaus größte Bedeutung, *H. heilmannii* gilt als seltene Ursache einer Gastritis, *H. cinaedi* und *H. fennelliae* sind seltene Durchfallerreger bei Homosexuellen und Immunsupprimierten.
Selbstversuche (MARSHALL, 1985 und MORRIS, 1986) zeigten, daß die Infektion der Magenschleimhaut zu den typischen histologischen Merkmalen einer chronisch-aktiven **Gastritis** führt, die sich nach Eradikation des Erregers zurückbildet. Die Erkrankung kann symptomlos verlaufen, in einigen Fällen jedoch auch durch ein **Ulcus duodeni** oder **Ulcus ventriculi** kompliziert werden, für dessen Entstehung die *Helicobacter*-Infektion mit ursächlich ist. Umfangreiche epidemiologische Studien weisen auch darauf hin, daß daß Risiko eines **Adenokarzinoms** sowie eines **MALT-Lymphoms** des Magens signifikant mit einer chronischen *H. pylori*-Gastritis assoziiert ist.

Tab. 4.30 Gastrale und intestinale *Helicobacter*-Spezies

Spezies	Vorkommen und ggf. Krankheitsbild	Wirt und Reservoir
H. pylori	Magenschleimhaut; Gastritis, Ulkuskrankheit, Magenkarzinom, MALT-Lymphom	Mensch (Affe, Katze?)
H. heilmannii	Magenschleimhaut, Gastritis	Katze, Hund, selten Mensch
H. mustelae	Magenschleimhaut, Gastritis	Frettchen
H. felis	Magenschleimhaut, Gastritis	Katze, Hund
H. nemestrinae	Magenschleimhaut	Affe *(Macaca nemestrina)*
H. acinonyx	Magenschleimhaut	Gepard
H. bizzozeronii	Magenschleimhaut	Hund
H. cinaedi	Intestinum, Proktitis	Mensch, Nagetiere
H. fennelliae	Intestinum, Proktitis	Mensch
H. pullorum	Intestinum, Diarrhoe	Geflügel, selten Mensch
H. muridarum	Intestinum	Mäuse, Ratten
H. canis	Intestinum	Hund
H. bilis	Leber, Galle, Darm	Maus
H. hepaticus	Leber, Intestinum	Maus
H. rappini	Leber, Intestinum	Maus, Mensch, Schaf

Laboratoriumsdiagnostik

Die Diagnose der *H. pylori*-Infektion wird in der Regel vom Pathologen durch den histopathologisch-bakterioskopischen Erregernachweis in gastroskopisch gewonnenen **Magenbiopsien** gestellt, darüber hinaus durch den **Ureaseschnellnachweis** aus dem Bioptat durch den Gastroenterologen sowie vom Mikrobiologen durch die **Kultur** auf Spezialnährböden. Die Anzucht von

Höhepunkt. In Ländern mit geringerem Hygienestandard erfolgt die Infektion meist bereits vor dem 5. Lebensjahr. Die Durchseuchung kann bei 20-jährigen bereits 80 % betragen.
Nach dem bisherigen Kenntnisstand scheint der **Mensch** das ausschließliche **Erregerreservoir** zu sein. Die **Übertragung** erfolgt von Mensch zu Mensch. In Entwicklungsländern ist der **fäkoorale Übertragungsweg** der wahrscheinlichste, wobei eine infizierte Mutter hohe Populations-

4.15 Anaerobe gram-negative Stäbchen (Bacteroides und andere)

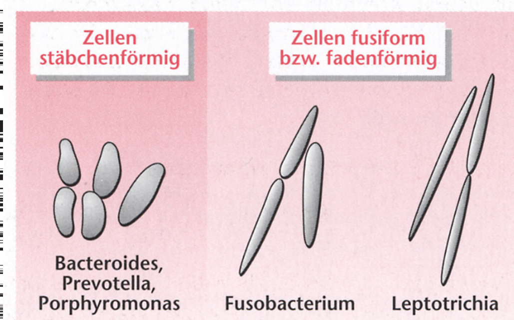
Heidi Schütt-Gerowitt

Die medizinisch relevanten anaeroben gram-negativen Stäbchen sind der Familie der *Bacteroidaceae* und einigen verwandten Gattungen zugeordnet (Tab. 4.31). Da sie sämtlich in der normalen Körperflora des Menschen vorkommen, sind die von ihnen hervorgerufenen Infektionsprozesse in der Regel endogen. Es sind meistens Mischinfektionen mit anderen Anaerobiern oder mit fakultativ anaeroben Bakterienarten,

spiel: die Gattung *Mobiluncus* wurde in der 7. Auflage dieses Buches noch unter den gram-negativen Stäbchen besprochen, sie wird jetzt zu den Aktinomyzeten gerechnet!). Die der Tab. 4.32 zugrunde liegende, heute gültige Einteilung wurde 1988/1990 von Shah und Collins vorgenommen.

4.15.2 Erregereigenschaften

Die **mikroskopische Morphologie** der Gattungen ist unterschiedlich. Die Zellen von *Bacteroides*-, *Porphyromonas*- und *Prevotella*-Arten sowie auch von *Bilophila* sind kokkoid, die der Fusobakterien lang und dünn, meist mit zugespitzten Enden und ausgesprochener Pleomorphie. *Leptotrichia*-Arten sind überwiegend gram-labi-



de Kolonien. Für die endgültige Identifizierung, die für die *Bacteroides fragilis*-Gruppe obligat ist, werden biochemische Reaktionen (Zuckervergärungen, Harnstoffspaltung, Indolbildung) und/oder gaschromatographische Untersuchungen benutzt. Für die Gattungszuordnung kann auch die unterschiedliche Empfindlichkeit für Antibiotika herangezogen werden (Tab. 4.32).

Die pigmentierten *Bacteroidaceae* werden aufgrund ihrer Fähigkeit bzw. Unfähigkeit zur Zuckervergärung in saccharolytische und asaccharolytische Arten eingeteilt. Insbesondere bei den asaccharolytischen Arten ist die genaue Identifizierung schwierig und im Routinelabor nicht immer möglich.

4.15.3 Normales Vorkommen und Pathogenese

Die anaeroben gram-negativen Stäbchen sind keine Umweltbakterien, sondern kommen in der normalen Flora des Menschen sowie auch bei Tieren vor. Sie machen vor allem im Mund und im Darm den größten Teil der **Normalflora** aus: im Colon ist das Verhältnis von Anaerobiern zu Aerobiern 1000 : 1, die absolute Zahl der Anaerobier beträgt 10^{11} pro Gramm Stuhl. *Bacteroides*- und *Prevotella*-Arten sind hier zah[illegible]

überwiegt zahlenmäßig bei weitem *Bacteroides vulgatus*, während in Infektionsprozessen am häufigsten *B. fragilis* und *B. thetaiotaomicron* gefunden werden. In der **Vagina** sind hauptsächlich *Prevotella melaninogenica, P. bivia* und *P. disiens* vertreten. Wie auch andere Bakterien der normalen Körperflora sind die anaeroben gram-negativen Stäbchen größtenteils an die Mukosa adhäriert.

Obgleich bezüglich der **physiologischen Rolle** der Anaerobier für den Gesamtorganismus noch keine Klarheit besteht, läßt sich doch sicher sagen, daß auch sie im Sinne der „**Kolonisationsresistenz**" gegen die Besiedlung mit potentiell pathogenen Bakterien schützen. Sie können in unterschiedlichem Maße Erreger schwerer, lebensbedrohlicher **Infektionsprozesse** sein, nachdem sie aufgrund einer unbedeutenden Schleimhautläsion oder einer passageren Abwehrschwäche ihren natürlichen Lebensraum verlassen haben und in die umliegenden Gewebe eingedrungen sind. Dort können sie ein lokales Krankheitsgeschehen auslösen und nach lymphogener oder hämatogener Streuung metastatische und septische Prozesse verursachen.

Ein wichtiger Faktor in der **Pathogenese** ist das **Zusammenwirken der verschiedenen Bakterien** in den mischinfizierten Prozessen. Schon 1930 [illegible]

macht 70% der Isolate aus Blutkulturen aus, dann folgen die anderen Arten der *Bacteroides fragilis*-Gruppe und viel seltener kommen Fusobakterien vor. Der Nachweis anaerober gram-negativer Stäbchen im Blut ist praktisch immer mit klinischen Symptomen verknüpft. Die Letalität beträgt bei unbehandelten Fällen bis zu 60%, jedoch auch bei behandelten Fällen noch 15–30%. Klinisch läßt sich das septische Geschehen durch Anaerobier nicht von dem durch andere gram-negative Stäbchen unterscheiden. Da *Bacteroides fragilis* kein Lipid A in der Zellwand besitzt, kommen die typischen Symptome des Endotoxin-Schocks zwar seltener vor, aber die anderen Virulenzfaktoren bedingen die Gefährlichkeit der *Bacteroides*-Sepsis.

Infektionen der Mundhöhle, des Respirationstraktes und der benachbarten Bereiche

Die große Zahl der im Mund vorkommenden Anaerobier führt dazu, daß an Infektionen in diesem Bereich die Anaerobier fast immer mitbeteiligt sind. Das häufigste Krankheitsbild im Mund ist die **Parodontitis** mit ihren verschiedenen Formen, der lokalisierten juvenilen Form und den beiden Verlaufsformen der Erwachsenen-Parodontitis, der chronischen und der rapid progressiven. Insbesondere bei der juvenilen und der rapid progressiven Form ist *Actinobacillus actinomycetemcomitans* oft als „Leitkeim" anzusehen (s. Kap. 4.16.1). Darüber hinaus haben aber einige gram-negative anaerobe Stäbchen eine ätiologische Bedeutung, vor allem *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia,* und *P. melaninogenica, Bacteroides forsythus* und Fusobakterien, denen aufgrund ihrer Virulenzfaktoren eine Rolle in der Entstehung dieses Krankheitsbildes zukommt, welches in der schwersten Form zur Zerstörung des Knochens und somit zum Zahnverlust führt.

Lebensbedrohlich ist die vor allem durch *Fusobacterium necrophorum* hervorgerufene LUDWIG-Angina (**Angina Ludovici**), eine Zellulitis der Sublingual- und Submandibulärspalten, die zu einer so starken Anschwellung der Zunge führen kann, daß Erstickung droht. Bei der **Angina Plaut-Vincenti** oder *Fuso-Treponematose* handelt es sich um eine meist einseitig auftretende nekrotisierende ulzeröse Angina, die mit starken Schmerzen einhergeht (s. auch Kap. 4.24). Die gram-negativen anaeroben Stäbchen, insbesondere Fusobakterien, werden auch bei *Peritonsillarabszessen, Mundbodenabszessen* sowie als Begleitbakterien bei der *Aktinomykose* nachgewiesen.

Während bei den akuten Formen der **Sinusitis** und der **Otitis media** Anaerobier praktisch keine Rolle spielen, kommen sie bei den chronischen Formen in bis zu 30% (Sinusitis) bzw. 50% und mehr (Otitis) vor. Bei der Sinusitis sind es vor allem Fusobakterien und nicht zur *B. fragilis*-Gruppe gehörende *Bacteroides*-Arten, während bei der Otitis auch *Bacteroides fragilis* und andere Arten aus der Gruppe gefunden werden. Ausgehend von diesen Prozessen kann es zur septischen Sinusthrombose oder Jugularvenenthrombose kommen.

Bei den **pleuropulmonalen Infektionen** sind die anaeroben gram-negativen Stäbchen an der Entstehung von Aspirationspneumonie, nekrotisierender Pneumonie, Lungenabszeß und Pleuraempyem beteiligt.

Weichteil-, Knochen- und Gelenkinfektionen

In hohem Prozentsatz kommen anaerobe gram-negative Stäbchen bei **Dekubitalulzera** und diabetischen Ulzera, bei Hunde- und Menschenbißverletzungen, infiziertem Pilonidalsinus und bei der **nekrotisierenden Fasziitis** vor. Bei den Ulzera ist überwiegend *Bacteroides fragilis* beteiligt, bei den übrigen Prozessen neben *Bacteroides*- auch *Prevotella*- und *Porphyromonas*-Arten sowie Fusobakterien. Auch bei *Osteomyelitis* und *septischer Arthritis* muß an die Möglichkeit einer – seltenen – Anaerobierinfektion gedacht werden.

Hirnabszesse und subdurale Empyeme sind weitere Krankheitsprozesse, bei denen die gram-negativen Anaerobier eine große Rolle spielen. Hierbei kommen überwiegend Fusobakterien in Mischinfektion mit bis zu zehn weiteren Bakterienarten vor. Bei epiduralem Abszeß und bei **Meningitis** sind Anaerobier dagegen äußerst selten zu finden.

4.15.5 Laboratoriumsdiagnose

Der Verdacht auf eine Anaerobierinfektion ergibt sich aus der **Lokalisation des Prozesses** und dem **klinischen Gesamtbild** sowie möglicherweise auf Grund einer vorangegangenen antibiotischen Therapie, die keine Wirkung gegen Anaerobier hatte (z.B. Gyrasehemmer, manche Cephalosporine, Aminoglykoside). Wenn dann bei der Materialentnahme ein **foetider Geruch** auffällt, ist die Diagnose „Anaerobier" praktisch

schon gestellt. Ob eine **kulturelle Anzüchtung** mit nachfolgender genauer Identifizierung erforderlich ist, hängt vom Infektionsprozeß ab. Bei den typischen Lokalisationen und Verläufen ist sie nicht immer notwendig, denn die spezielle Therapie muß ohnehin bereits auf Grund des Verdachtes begonnen werden. Bei generalisierter Peritonitis und Bakteriämie sowie bei Patienten mit schweren Grunderkankungen oder wenn eine Langzeittherapie erforderlich wird (z.B. bei Osteomyelitis), muß eine genaue Erregeridentifizierung angestrebt werden.

Bei der **Probenentnahme** darf **kein Kontakt mit den Schleimhautoberflächen** stattfinden, da die in Frage kommenden Erreger auch Bestandteil der Normalflora sind. Es muß versucht werden, durch **Aspiration oder Punktion** Material aus der Tiefe zu gewinnen; wegen der Verletzungsgefahr sollte es aber nicht in der Spritze selbst verschickt werden. Abstriche von diesen Prozessen sind praktisch unbrauchbar, weil sie nicht kontaminationsfrei zu gewinnen sind und weil an ihnen zuwenig Material haftet. Auf jeden Fall muß das Material in ein Transportmedium für Anaerobier mit einem Oxidations-Reduktions-Indikator gegeben werden. Der Transport zum Labor muß schnell und bei Zimmertemperatur (Sauerstoff diffundiert in der Kälte besser) erfolgen.

Bei der **Materialbearbeitung** im Labor ist ein **Grampräparat** obligat. Es ist im Hinblick auf Körperzellen (Phagozyten) und auf Bakterien zu beurteilen, es läßt jedoch nur bei Vorhandensein typischer Strukturen (z.B. Fusobakterien) wie möglich in die anaerobe Atmosphäre gelangen müssen.

Für die endgültige Identifizierung durch biochemische Reaktionen und auch für die Bestimmung der zelluäre Fettsäuren mittels Gaschromatographie müssen Reinkulturen vorliegen, deren Herstellung viel Zeit in Anspruch nehmen kann. Die Durchführung der biochemischen Reaktionen ist aufwendig; sie wird durch den Einsatz industriell gefertigter Testkits (Minitek®, API 20A) vereinfacht. Gensondentechnik und PCR sind bisher noch nicht für die Routinediagnostik einsetzbar.

Die **Testung** der **Antibiotikaempfindlichkeit** von Anaerobiern ist im Agardiffusionstest nicht möglich. Es müßte die MHK bestimmt werden, wofür die technisch aufwendigeren Dilutionstechniken (Agardilutionstest, Bouillondilutionstest) einzusetzen wären. Ob sich dafür auch der in letzter Zeit eingeführte E-Test bewähren wird, kann noch nicht abschließend beurteilt werden. Eine routinemäßige Testung ist nicht in allen Fällen erforderlich, sie muß aber bei schweren Verläufen, bei Therapieversagern, bei Nachweis der Anaerobier aus sterilen Körperbereichen und bei langfristiger Therapie angestrebt werden. Damit empirische Therapieempfehlungen gegeben werden können, müssen von Zeit zu Zeit größere Stammkollektive getestet werden.

4.15.6 Therapie und Prophylaxe

resistenteren anaeroben gram-negativen Stäbchen der *Bacteroides fragilis*-Gruppe, deren wichtigster Resistenzmechanismus die β-Laktamase-Bildung ist. Die übrigen Arten sind meist sogar empfindlich für Penicillin G.

Bei den Überlegungen zur Therapie ist in Betracht zu ziehen, daß manche Antibiotika überhaupt keine Wirkung gegen die anaeroben gram-negativen Stäbchen haben, so daß ihre Gabe sogar zur Selektionierung dieser Bakteriengruppe führen kann. Hierzu gehören insbesondere die Aminoglykoside, aber auch die bis jetzt verfügbaren Gyrasehemmer und einige Cepha-

die ausnahmslos zur normalen Körperflora von Mensch und auch Tieren gehören, ist noch nicht abgeschlossen. So wird z.B. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* auch als separate Gruppe mit der Bezeichnung *Haemophilus actinomycetemcomitans* angesehen. Im folgenden werden jedoch weiterhin die bislang gebräuchlichen Namen beibehalten.

4.16.1 Actinobacillus (Haemophilus) actinomycetemcomitans

Nur *A. actinomycetemcomitans* kommt als Kommensale beim Menschen vor und hat hier auch zweifelsohne klinische Bedeutung. Die übrigen

diese Bakterienart auch als alleiniger Erreger einer Endokarditis u.a. nachgewiesen werden. Eine ursächliche Beteiligung an der Periodontitis-Ätiologie wird diskutiert.
Worauf dieses enge Symbiose-Verhältnis zwischen Aktinomyzeten und *A. actinomycetemcomitans* beruht, ist unbekannt. Praktisch wichtig ist die Feststellung, daß *A. actinomycetemcomitans* per se wohl keine Aktinomykose auslösen kann. Diese Bakterienart ist jedoch in der Lage, diesen spezifischen Prozeß weiter zu unterhalten, wenn der ursächliche Erreger *A. israelii* z.B. mit Hilfe einer Penicillin-Therapie eliminiert wurde (*A. actinomycetemcomitans* ist resistent gegen Benzylpenicillin).

Therapie

Die neueren Breitspektrum-Penicillin- und Cephalosporinpräparate sowie Nitroimidazole wirken für gewöhnlich gut gegen *A. actinomycetemcomitans*, mit einzelnen resistenten Stämmen muß jedoch gerechnet werden. Chloramphenicol und die Tetrazykline zeigen eine gute Wirksamkeit. Clindamycin und die Aminoglykoside sind, wenn überhaupt, nur mäßig effektiv.

4.16.2 Eikenella corrodens

E. corrodens wird als einzige Art des Genus *Eikenella* aufgeführt.
Es handelt sich um zarte, gram-negative Kurzstäbchen, die unbeweglich und fakultativ anaerob sind und auf der Oberfläche fester Nährböden in sehr charakteristischen Kolonien wachsen (die Kolonien sind flach, erscheinen ausgelaufen und oft in den Nährboden eingesunken). *E. corrodens* kann auf den üblichen bluthaltigen Nährmedien gut angezüchtet werden, verhält sich oxidase-positiv, katalase-negativ und ist nicht in der Lage, Säure aus Glukose oder anderen Zuckern zu bilden. Die fehlende Harnstoffspaltung erleichtert eine Abgrenzung zur im Wachstum ähnlichen anaeroben Bakterienart *Bacteroides urealyticus*. Die optimale Wachstumstemperatur liegt bei 37 °C.
E. corrodens ist normaler Kommensale der Mund- und Darmflora des Menschen, kann aber auch häufig in den verschiedensten Krankheitsprozessen nachgewiesen werden. Meist ist er dort in Mischinfektion mit anderen Aerobiern oder Anaerobiern anzutreffen, es sind aber auch Monoinfektionen mit *E. corrodens* beschrieben worden. Es besteht kein Zweifel daran, daß *E. corrodens* ein fakultativ pathogener Mikroorganismus ist. Sein Nachweis in Krankheitsprozessen sollte daher entsprechend beachtet werden. *E.corrodens* ist empfindlich für Benzylpenicillin, Ampicillin, Cefoxitin, Chloramphenicol und Tetrazykline, resistent gegen Clindamycin und Metronidazol. Die Aminoglykoside sind ebenfalls zumeist unwirksam.

4.16.3 Haemophilus aphrophilus

Diese mikroaerophile Bakterienart (zarte gram-negative Stäbchen) ist in der physiologischen Mundrachenflora des Menschen anzutreffen und kann leicht mit *A. actinomycetemcomitans* verwechselt werden. *H. aphrophilus* ist offensichtlich wenig virulent und kann gelegentlich aus aerob/anaeroben Mischinfektionsprozessen angezüchtet werden. In seltenen Fällen ist diese Spezies auch als ursächlicher Erreger einer Endokarditis nachzuweisen.

4.16.4 Cardiobacterium hominis

Diese zarten gram-negativen Stäbchenbakterien sind mikroaerophil und gehören ebenfalls zur normalen Mund-/Rachenflora des Menschen. Wie der Name es schon ausdrückt, kann *C. hominis* Endokarditiden verursachen, seine Antibiotikaempfindlichkeit ist gut.

4.16.5 Kingella

Diese früher zu den Moraxellen gerechneten gram-negativen Kurzstäbchen sind Bewohner der Schleimhäute der oberen Luftwege des Menschen, ihre pathogene Bedeutung ist gering. *Kingella kingae* ist am bekanntesten.

4.16.6 Capnocytophaga

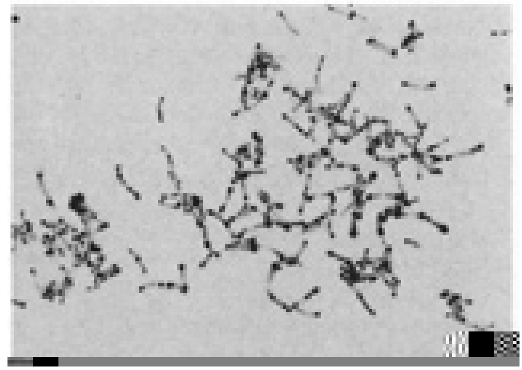
Es handelt sich hier um eine ebenfalls beim Menschen als Kommensale vorkommende Bakterienart mit Ähnlichkeiten zu *Eikenella*, *Actinobacillus*, *Gardnerella* und *Haemophilus*. Diese mikroskopisch als gram-negative fusiforme Stäbchen erscheinenden Bakterien wachsen aerob nur bei Anwesenheit von 5% CO_2. Auch *Capnocytophaga* kann verschiedentlich in aeroben/anaeroben Mischinfektionen angetroffen werden und wird daher auch als fakultativ pathogener Erreger diskutiert. Von den verschiedenen *Capnocytophagen*-Arten sei lediglich *C. ochracea* erwähnt.

4.17 Die Gattung Corynebacterium, Diphtherie

HEIDI SCHÜTT-GEROWITT, JOSEF BEUTH

Corynebakterien sind gram-positive Stäbchen, die diesen Gattungsnamen aufgrund ihrer keulenförmigen Struktur erhielten. In der normalen Haut- und Schleimhautflora des Menschen kommen zahlreiche apathogene Arten vor. Toxinbildende Stämme von *Corynebacterium diphtheriae* sind die Erreger der meldepflichtigen, epidemisch auftretenden Diphtherie. Die übrigen Corynebakterien spielen heute – wie andere Normalflorabakterien – bei immunsupprimierten Patienten als Erreger eine Rolle.

4



muß die Toxinbildung nachgewiesen werden. Aufgrund von Koloniemorphologie, Zuckerfermentation und Hämolyseverhalten werden bei *C. diphtheriae* die Typen *gravis, intermedius* und *mitis* unterschieden. Eine Korrelation des Typs mit der Schwere des Krankheitsbildes wird heute nicht mehr angenommen und auch für epidemiologische Fragestellungen, für die man die Typeneinteilung heranzog, werden heute andere Methoden eingesetzt.

C. diphtheriae ist relativ resistent gegen Um-

Epidemiologie und Klinik

Das **Erregerreservoir** für *C. diphtheriae* ist ausschließlich der Mensch. Die Bakterien werden überwiegend durch **Tröpfcheninfektion** von Erkrankten oder von gesunden Keimträgern übertragen. Selten ist eine Übertragung durch kontaminierte Gegenstände nachgewiesen worden. Nach einer Inkubationszeit von 2–5 Tagen erkranken ca. 20 % der nicht-immunen, infizierten Personen.

onslinie führt. Eine weitere Möglichkeit ist der Nachweis des Toxin-Gens mittels PCR.

Therapie

Wenn klinische Symptome an Diphtherie denken lassen, muß der Patient als erstes nach seinem **Impfstatus** befragt werden. Ist dieser unklar oder liegt definitiv keine Auffrischungsimpfung vor, ist die einzige wirksame therapeutische Maßnahme die **passive Immunisierung**, d.h. die Gabe von Diphtherie-Antitoxin. Es muß so früh wie möglich gegeben werden, da es nur wirkt,solange das Toxin noch nicht in die Zellen eingedrungen ist. Leider steht bei uns kein menschliches Antiserum zur Verfügung, so daß Serum vom Pferd, in Ausnahmefällen von anderen Tieren, mit der entsprechenden Problematik (Serumkrankheit, Immunisierung gegen das tierische Eiweiß) benutzt werden muß. Je nach Schwere des Krankheitsbildes gibt man 500 bis 2000 IE Antitoxin pro kg Körpergewicht oder mehr. Eine bereits vorliegende Allergisierung gegen das tierische Serum muß vorher durch einen Intrakutantest oder einen Orbitaltest ausgeschlossen werden.
Erst an zweiter Stelle steht die Gabe von **Antibiotika** (Penicillin G oder Erythromycin). Die Antibiotika hemmen die weitere Vermehrung der Bakterien und bewirken ihre Eliminierung, sie können die Wirkung des bereits gebildeten Toxins aber nicht verhindern. Bei der Larynx-Diphtherie ist u.U. nur die rechtzeitige Intubation und die operative Entfernung der verlegenden Membranen lebensrettend.

Prophylaxe

Die wichtigste Maßnahme zur persönlichen Prophylaxe und zur Vermeidung von Epidemien ist die **aktive Immunsierung** zum Aufbau einer antitoxischen Immunität. Dies hat die geschilderte Entwicklung in Rußland deutlich gezeigt, und auch bei den Kleinepidemien in Deutschland waren ausschließlich Personen ohne oder mit unzureichendem Impfschutz betroffen.
Die aktive Immunisierung wird mit Diphtherie-Toxoid, dem chemisch veränderten Diphtherie-Toxin, durchgeführt. Bereits im ersten Lebensjahr muß zur Grundimmunisierung dreimal geimpft werden, dann erfolgen Auffrischungen im zweiten Lebensjahr, im Schuleintrittsalter und weiterhin alle 10 Jahre. Bei lege artis durchgeführter Grundimmunisierung wird, auch wenn die letzte Impfung länger als 10 Jahre zurückliegt, nur *eine* Auffrischungsimpfung gegeben (s. Tab. 12.7). Durch die Immunisierung mit dem Toxid wird eine **antitoxische Immunität** erzeugt, die die Besiedlung mit Diphtheriebakterien und somit das Keimträgertum nicht verhindert. Dennoch ist die Trägerrate unter geimpften Personen viel geringer als bei Ungeimpften. Möglicherweise ist das Toxin ein wichtiger Faktor für die Adhäsion der Bakterien an die Körperzellen. Die Prophylaxe nichtimmuner Kontaktpersonen eines Erkrankten kann mit einer niedrig dosierten Antitoxingabe oder mit Penicillin G durchgeführt werden.
Meldepflicht: Nach dem Infektionsschutzgesetz sind Krankheitsverdacht, Erkrankung und Tod an Diphterie sowie der direkte und indirekte Nachweis von toxinbildenden *C. diphtheriae* meldepflichtig.

4.17.2 Andere Corynebakterien

Wie bereits erwähnt, kommen zahlreiche Corynebakterien in der normalen Körperflora des Menschen vor. Von diesen sind es die Arten *C. xerosis, C. pseudodiphtheriticum* und insbesondere *C. jeikeium,* die bei immunsupprimierten Patienten als Sepsis- oder Endokarditis-Erreger gefunden werden und auch bei Patienten mit kontinuierlicher ambulanter Peritonealdialyse (CAPD) als Erreger eine Rolle spielen. Wie die Koagulase-negativen Staphylokokken können diese Bakterien Katheter oder andere Plastikmaterialien besiedeln und damit Ausgangspunkt für eine Infektion mit anschließender Sepsis sein. Problematisch ist die hohe Resistenz von *C. jeikeium,* so daß zur Therapie praktisch nur die Glykopeptidantibiotika Vancomycin bzw. Teicoplanin in Frage kommen. Eine weitere Corynebakterienart, die sogar Diphtherietoxin produzieren kann, ist *C. ulcerans.* Sie kommt primär bei Pferden und Kühen vor, selten wurde sie beim Menschen als Erreger gefunden. *C. minutissimum* wurde 1961 als Erreger des **Erythrasma** erkannt, einer oberflächlichen Hauterkrankung, die vor allem in intertriginösen Bereichen in Form von rötlichen bis bräunlichen, schuppenden Stellen auftritt und Juckreiz hervorruft. Die Diagnose wird zunächst aufgrund der roten Fluoreszenz der befallenen Stellen im WOOD-Licht gestellt, die Anzüchtung des Erregers gelingt nur unter besonderen Bedingungen.
Die **Identifizierung** der Corynebakterien erfolgt biochemisch durch den Nachweis von Urease,

Kultur

Probenmaterial wird auf Glukose-haltigen Blutagar ausgeimpft und mehrere Tage bei 36 °C und 5–8% CO_2-Spannung inkubiert. *E. rhusiopathiae* wächst in kleinen glatten, grauweißen Kolonien von 0,5 mm Durchmesser mit leichter Hämolyse. Rauhformen bilden größere Kolonien mit unregelmäßigem Rand.

Keimidentifikation

Der definitive Nachweis von *E. rhusiopathiae* wird geführt durch:
- biochemische Merkmale in der bunten Reihe (insbesondere Glukose/Saccharose-Metabolismus),
- fehlende Katalaseaktivität,
- H_2S-Bildung (Leitreaktion).

4.18.4 Therapie

Das Antibiotikum der Wahl bei der kutanen und arthritischen Form der Erkrankung ist Penicillin G, die optimale Dosis beträgt 3–4 Mega E/Tag. Endokarditis und Sepsis durch *E. rhusiopathiae* werden hochdosiert mit 30 Mega E/Tag Penicillin G und langfristig therapiert. Bei Penicillinallergie sind Cephalosporine, Erythromycin oder Clindamycin angezeigt, gegen Vancomycin ist *E. rhusiopathiae* resistent.

Literatur

BILLE, J., and M. P. DOYLE: Listeria and Erysipelothrix. In: BALLOWS, A., W. J. HAUSLEV, K. L. HERRMANN, H. D. ISENBERG and H. J. SHADOMY (Eds.): Manual of Clinical Microbiology, 5th ed., Amercian Society for Microbiology, Washington, DC, 1991, 287–295.

GORBY, G. L., and J. E. PEACOCK: Erysipelothrix rhusiopathiae endocarditis: microbiologic, epidemiolo-

biochemische Merkmale deuten auf fünf Genomgruppen hin. Humanpathogene Arten sind *Listeria monocytogenes* und *L. ivanovii*.

4.19.1 Eigenschaften

Listerien sind gram-positive, kokkoide, sporenlose, 0,4–0,5 × 0,5–2 µm große Stäbchen mit abgerundeten Enden, die bei Bebrütung im Temperaturbereich von 20–30 °C durch taumelnde, rotierende Beweglichkeit erkennbar sind. Die charakteristische Beweglichkeit ist bei höheren Bebrütungstemperaturen nicht mehr gegeben, da keine Geißeln ausgebildet werden.
Auf Schafblutagar wachsen Listerien als kleine grauweiße Kolonien mit schwachem (*L. monocytogenes*) bzw. deutlichem (*L. ivanovii*) β-Hämolysehof, hervorgerufen durch Listeriolysin O, das eine dem Streptolysin O nahezu identische Struktur aufweist. R-Formen manifestieren sich morphologisch als rauhe Kolonien mit unregelmäßigen Rändern, mikroskopisch als längere Stäbchen bzw. Fäden und kulturell durch angedeutete Hämolyse.

4.19.2 Pathogenese

Pathogene Listerien werden in Wirtszellen internalisiert
- nach Phagozytose durch Monozyten, Makrophagen, Granulozyten;
- durch Invasion in alle Körperzellen.

Sie werden zunächst in eine Vakuole eingeschlossen, deren Membran nach Freisetzung von Listeriolysin O und begleitender pH-Wert-Senkung perforiert wird, so daß die Bakterien in das Zytoplasma der Zelle eingeschleust werden, wo sie sich vermehren können. Listerien gehören zur Gruppe der fakultativ intrazellulären Erreger, wie u.a. auch Salmonellen, Yersinien, Mykobakterien, Legionellen.

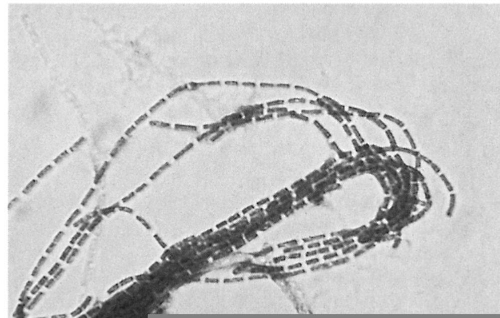
mensgebung des Erregers geführt. Die Rolle von Toxinen für die Pathogenese ist bislang nicht vollständig geklärt und bedarf weiterer Forschungsaktivitäten.
Zur definitiven Eliminierung intraphagozytärer Listerien ist eine T-Zellen-vermittelte Immunreaktion notwendig. Unter dem Einfluß von T-Lymphozyten entsteht ein Granulom, ähnlich dem Tuberkulom bei der Abwehr von Mykobakterien, mit ortsständigen Makrophagen, die durch definierte Zytokine stimuliert werden und antibakterielle Aktivität entfalten.
Experimentelle murine (in Mäusen/Ratten) Modelle deuten auf eine bislang nicht vermutete Bedeutung von polymorphkernigen Leukozyten (Granulozyten) bei der Überwindung von *L. monocytogenes*-Infektionen hin. Der definitive Nachweis, daß funktionsfähige Granulozyten den Krankheitsverlauf einer Listeriose beein-

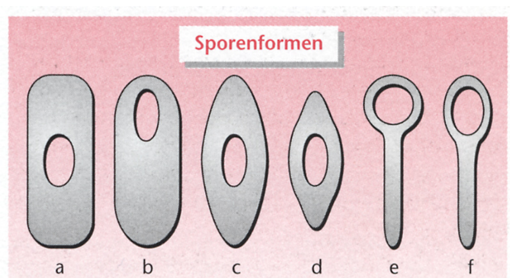
4.19.4 Laboratoriumsdiagnose

Untersuchungsmaterial: In Abhängigkeit von der Krankheitssymptomatik wird Blut, Liquor, Stuhl, Mekonium, Amnionflüssigkeit, Lochialsekret oder Sektionsmaterial mikrobiologisch untersucht. Die Proben sollten unverzüglich gekühlt in einem adäquaten Transportmedium zur Diagnostik gelangen. Serologische Untersuchungen haben sich nicht bewährt.
Mikroskopie: Im Originalpräparat von Blut, Liquor, Amnionflüssigkeit sieht man extra- und intrazelluläre, gram-positive, kokkoide, an den Enden abgerundete Stäbchen. In Mischfloraproben wie Stuhl oder Lochialsekret können gram-positive, kokkoide Stäbchen diagnostisch auf *L. monocytogenes* hinweisen.
Kultur: Die kulturelle Anzüchtung von Listerien gelingt auf/in wenig anspruchsvollen konven-

Tab. 4.34 Speziesdifferenzierung der Gattung *Listeria*

	L. monocytogenes	*L. ivanovii*
Beweglichkeit (20–25 °C)	+	+
Katalase	+	+
ß-Hämolyse[1]	+[3]	+[2]




Sporenformen
a
b
c
d
e
f

Kultur: An die Nährböden werden nur geringe Ansprüche gestellt. Optimales Wachstum und Sporenbildung erfolgt nur bei Sauerstoffzutritt. Das Wachstumsoptimum liegt bei 35–37 °C (min. 15 °C; max. 43 °C). Die Kolonie zeigt ein charakteristisches Bild, das mit einem „Medusenhaupt" verglichen wurde. Die flache, große, oberflächlich rauhe Kolonie sendet von ihrem Rand Ausläufer aus kettenartig angeordneten Stäbchen aus (Abb. 4.38), die bogenförmig zur Kolonie zurücklaufen. Diese lockige Form ist gelegentlich auch bei *B. cereus* zu beobachten. Die Keime in der Medusenhauptkolonie bilden Kapseln und sind virulent, die Kolonie entspricht einer R-Form. Die Keime der S-Form-Kolonie sind kapsellos und avirulent. Unter erhöhter CO_2-Spannung wachsen die kapselbildenden Stämme jedoch glatt, als runde, schleimige (mukoide) Kolonien (die aber „rauhe", virulente Ausläufer abspalten).
In Subkulturen, besonders im Gelatinestich, erfolgt das Wachstum zunächst entlang des Stichkanals, dann verbreitet es sich seitwärts; oben, dem Luftsauerstoff zugewandt, mehr als in der Tiefe, so daß das Bild des „umgekehren Weihnachtsbaumes" resultiert. Auf Blutplatten tritt keine oder nur geringe Hämolyse auf.

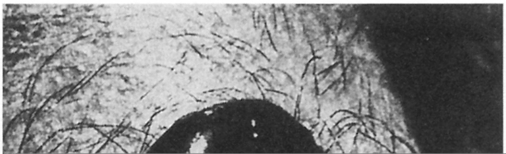
Pathogenese

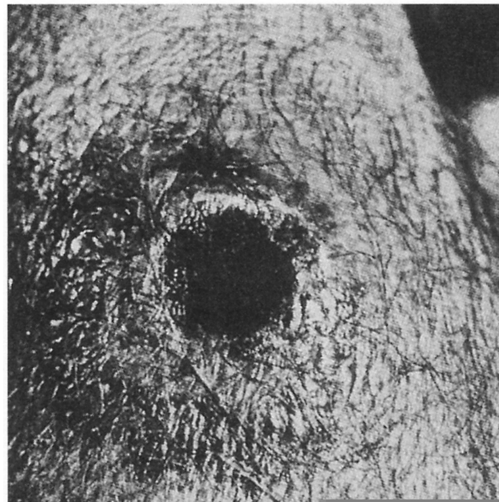
Die Infektion erfolgt durch Sporen, die bei kutanem Milzbrand über Hautverletzungen eindringen, auskeimen, sich lokal vermehren und zu einer entzündlichen Reaktion mit Ansammlung polymorphkerniger Leukozyten führen. Es kommt zur Bildung der malignen Pustel, von der eine Septikämie ausgeht. Unter der Wirkung des Anthrax-Toxin-Komplexes kommt es zu Lungenödem und Nekrose. Unbehandelt tritt meist der Tod ein.
Werden die Sporen eingeatmet („Lungenmilzbrand"), kommt es in der Trachea, den Bronchi-

Virulenzfaktoren: Die Virulenz der Milzbrandbazillen ist an die **Kapsel** aus poly-γ-Glutaminsäure und den **„Anthrax-Toxin-Komplex"** gebunden. Virulente Stämme besitzen zwei große Plasmide, pX02, das für die Kapsel codiert und pX01, das die Gene für die Toxinbildung enthält. Stämme ohne Plasmid pX01 bilden kein Toxin und sind avirulent, ohne pX02 (Kapsel) sind sie mindestens 10^5mal weniger virulent als Wildstämme. Zur Auslösung des vollen Krankheitsbildes sind beide Virulenzfaktoren erforderlich. Die Kapsel schützt vor der Phagozytose und ist daher für das Angehen der Infektion essentiell. Der Toxinkomplex besteht aus 3 Protein-Komponenten, die erst im Zusammenwirken ihre toxischen Eigenschaften enfalten (Tab. 4.35).

Klinik

Der **Milzbrand** befällt den Menschen meist in Form der **Pustula maligna**, als Hautmilzbrand. Nach einer Inkubationszeit von 1–5 Tagen entsteht eine juckende rote Papel mit schwarzem Zentrum, aus der eine Pustel hervorgeht, die mit sanguinolenter Flüssigkeit gefüllt ist (Abb. 4.40). Sie trocknet ab und hinterläßt einen schwarzen Schorf (Abb. 4.41). In der Umgebung treten Tochterbläschen auf, die einen gleichen Verlauf nehmen. Der ausgeprägte Milzbrandkarbunkel zeigt ein blauschwarzes Zentrum, das von einem wallartig erhabenen Hof umgeben ist. Bei gutartigem Verlauf bleibt der Prozeß lokal beschränkt, verläuft fast ohne Fieber und führt nach 10–15 Tagen unter Abstoßung des Schorfes zur Heilung. Bei tödlich endenden Fällen tritt zunächst eine Lymphangitis und Lymphadenitis auf, dann kommt es zu Sepsis. Fieber, Schüttelfrost, Diarrhoen und Koliken, Hautblutungen, Milztumor und Kreislaufstörungen sind die äußeren Zeichen. Häufigster Sitz der Milzbrandkarbunkel





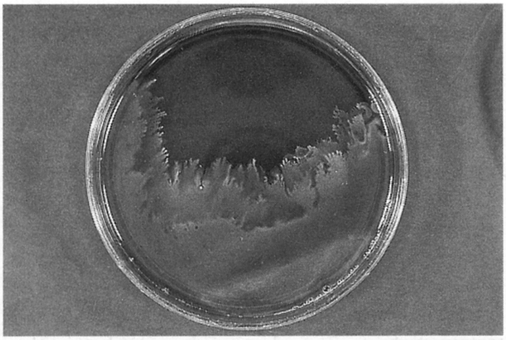


Abb. 4.44 *Clostridium tetani*, Kultur auf ZEISSLER-Agar.

physiologische Wunde, der Nabel des Neugeborenen, dessen Infektion (unter unhygienischen Verhältnissen, heute nur noch in Entwicklungsländern) zum *Tetanus neonatorum* führt. Besonders tetanusgefährdet sind alle Straßenverkehrs- und Kriegsverletzungen sowie Schußwunden bei gleichzeitiger Verschmutzung mit Erde, Straßenstaub, Holz oder Dung, außerdem Bißwunden durch Tiere.

Virulenzfaktoren: Von *C. tetani* werden 2 Toxine gebildet, ein Hämolysin (*Tetanolysin*) und das **neurotoxische Tetanospasmin**, das für die klinischen Erscheinungen des Tetanus verantwortlich ist.

Das Gen für Tetanospasmin ist in einem relativ großen Plasmid (75 kb) lokalisiert. Tetanospasmin wird von vegetativen *C. tetani*-Zellen gebildet und bei deren Zerfall als Polypeptidkette von 150 kDa freigesetzt. Nach Spaltung durch eine intrinsische Protease in 2 Fragmente von 50 und 100 kDa bleiben die Fragmente durch eine Disulfidbrücke in Verbindung. Das schwere Fragment bindet an die neuronalen Zellen, das leichte Fragment blockiert die Freisetzung von Neurotransmittern. Da sich im leichten Fragment ein Zinkatom befindet, kann Tetanospasmin (und Botuli-

Synapsen des ZNS kommt es zur äußerst schmerzhaften Dauerkontraktion der betroffenen quergestreiften Muskulatur (Dauerkontraktur =Tetanus). Tetanospasmin wirkt bei Mäusen bereits in einer Dosis von 9×10^{-11}g tödlich; beim Menschen ist wahrscheinlich weniger als 1 µg erforderlich.

Klinik

Die **Inkubationszeit** liegt zwischen (2) 4–14 Tagen, längere Zeiten wurden beobachtet. Je kürzer die Inkubationszeit, umso höher ist die Letalität. Beträgt sie weniger als 5 Tage, tritt der Tod in der Regel nach 2–4 Tagen ein; die Letalität liegt bei Inkubationszeiten von 7–14 Tagen bei etwa 50%, bei 14–21 Tagen bei 35–40%.

Die **geringfügigen Prodromalerscheinungen** wie Schwitzen, leichtes Ziehen und angedeutete Steifigkeit im Bereich der Wunde, werden häufig übersehen. Das erste diagnostisch verwertbare Symptom ist eine fortschreitende Spannung und Steifigkeit der Kaumuskeln. Der Mund kann nicht mehr geöffnet werden: **Trismus**. Anschließend werden die Gesichtsmuskeln ergriffen. Dies führt zum charakteristischen **Risus sardonicus** (Facies tetanica), einem grinsenden oder weinerlichen Gesichtsausdruck. Der Mund ist in die Breite gezogen, die Stirn in senkrechte Falten gelegt. Nacken- und Rückenmuskulatur wird befallen, die Folge ist ein **Opisthotonus**. Der Kopf wird tief in die Kissen versenkt, der Rücken liegt hohl, die Thoraxmuskulatur ist in Inspirationsstellung, die Bauchmuskeln sind bretthart.

Dieser qualvolle Zustand wird noch durch kurzdauernde (1–2 Min.) Krampfparoxysmen kompliziert, die außerordentlich schmerzhaft sind, den Opisthotonus verstärken und auch die Schlundmuskulatur, das Zwerchfell und die Glottis ergreifen, so daß es zum Erstickungstod

wird er durch den häufig geübten Brauch, den Nabelstumpf mit Kuhdung abzudecken.
Differentialdiagnostisch ist bei ausgeprägtem Tetanus an eine Strychninvergiftung zu denken (Fehlen der Muskelstarre in anfallsfreien Pausen, Befallensein der Hände, Blutdruckerhöhung), an Lyssa (fehlender Trismus), Meningitis mit Opisthotonus (Lumbalpunktion entscheidet), Trichinose (Eosinophilie), Apoplexie mit Blutung im Ventrikel (Bewußtlosigkeit).

Laboratoriumsdiagnose

Die Diagnose des Tetanus erfolgt in erster Linie durch das **klinische Bild**. Sie kann durch den Tierversuch und die Isolierung des Erregers bestätigt werden.

Tierversuch: Exzidiertes Wundmaterial wird zerkleinert und Mäusen in den Oberschenkel gespritzt. Stark verunreinigtes Material wird vorher 30 Min auf 80 °C erhitzt. Nach einigen Tagen zeigen die Tiere die ersten Erscheinungen, die durch die „Robbenstellung" der Hinterbeine charakterisiert sind. Die Hinterpfoten sind nach hinten gestreckt (Abb. 4.45)
Kultur: Gleichzeitig wird der kulturelle Nachweis durch Einbringen erhitzten oder nicht erhitzten Materials in Leber- und Thioglykolatbouillon, in Traubenzucker-Hochschicht-Schüttelagar und auf anaeroben Blutplatten zu führen versucht. Die Identifizierung der Keime („Trommelschlegelform") geschieht durch Bestimmung der kulturellen und biochemischen Merkmale.
Erst der Nachweis des Tetanustoxins sichert die Identifizierung. Dazu wird vier Mäusen in der Nähe der Schwanzwurzel injiziert:

- 1) Kulturfiltrat (oder Aufschwemmung des Wundmaterials),
- 2) Kulturfiltrat + Tetanusantitoxin,
- 3) Kulturfiltrat + Diphtherieantiserum,
- 4) vorher 30 Min auf 100 °C erhitztes Kulturfiltrat.

Die Tiere 1 und 3 müssen sterben, 2 und 4 überleben. Die Zugabe von Diphtherieserum (Tier 3) dient als Kontrolle, die einen unspezifischen Einfluß von Serum ausschließen soll, im erhitzten Kulturfiltrat (Tier 4) wird das Tetanustoxin durch Hitze zerstört.

Therapie

Allgemein: Wenn ein Tetanus ausgebrochen ist, muß die Eintrittspforte exzidiert werden. Dadurch wird eine weitere Toxinbildung verhindert, da die Keime auf die Eintrittspforte beschränkt bleiben. Penicillin, Tetrazykline und Metronidazol hemmen das Wachstum von *C. tetani* zwar in vitro, sind aber in vivo wenig wirksam. Trotzdem ist eine antibiotische Therapie angezeigt, um Komplikationen (Pneumonie) zu vermeiden. Zur Schmerzlinderung Analgetika, zur Ruhigstellung Sedativa, u.U. Relaxantien (z.B. Diazepam). Größte Ruhe für den Patienten (abgedunkelter Raum), ggf. Atemunterstützung.
Spezifische Therapie: Nach Ausbruch eines Tetanus wird zur Neutralisation des noch nicht an die Nervenzellen gebundenen Toxins humanes Tetanusantiserum in hohen Dosen i.m. verabreicht.
Bei Patienten ohne nachweisbaren Impfschutz wird nach tetanusverdächtigen Verletzungen eine Serumprophylaxe mit humanem Tetanusantitoxin durchgeführt, die etwa 4 Wochen Schutz verleiht. Gleichzeitig ist eine aktive Schutzimpfung an einer weit entfernten Stelle vorzunehmen (auf keinen Fall Mischspritze mit Antitoxin und Toxoid!). Das gleiche gilt für größere Verbrennungen; nach Tierbissen ist, soweit erforderlich, eine Auffrischung der Tetanusschutzimpfung angezeigt. Bei späteren (evtl. jahrelang späteren) Geschoß-, Splitter- und anderen Fremdkörperentfernungen sollte eine Immunprophylaxe mit humanem Tetanusantiserum wie bei frischen Verletzungen durchgeführt werden.
Die Serumtherapie bietet keine Gewähr für einen absoluten Schutz vor dem Ausbruch der Erkrankung. Ist bereits viel Toxin an die Nervenzellen gebunden, kann dies durch Antiserum nicht mehr neutralisiert werden.

Epidemiologie und Bekämpfung

In Ländern mit funktionierender Immunprophylaxe ist die Zahl der Tetanus-Erkrankungen stark zurückgegangen. Von 1996–1998 erkrankten in der Bundesrepublik Deutschland 35 Per-

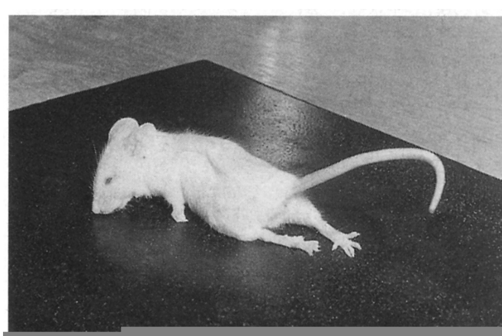


Abb. 4.45 Tetanus der Maus, „Robbenstellung" der Hinterpfoten.

Der Neugeborenen-Botulismus tritt selbst bei brustgestillten Kindern auf; die Sporen sind ubiquitär verbreitet. Angeschuldigt wurde auch sporenbehafteter Honig.

Da das Toxin hitzelabil ist, schützt ein 10minütiges Kochen der Gemüse- und Fleischkonserven vor Botulismus. Verdächtige Lebensmittel dürfen bei der hohen Toxizität nicht einmal abgeschmeckt werden! Bei den meist unauffälligen Räucherwaren sind Vorsichtsmaßnahmen nur schwer möglich.

Bei der Seltenheit der Erkrankung wird die mit Toxoid mögliche **Schutzimpfung** nicht durchgeführt; ein entsprechender Impfstoff ist nicht auf dem Markt.

4.20.6 Weitere Clostridien, Gas- und Rauschbrand

Von mehreren Clostridien-Arten werden Infektionen verursacht, die als **Gasbrand, Gasgangrän** oder **Gasödem, Enteritis necroticans (Darmbrand)** und **Rauschbrand** (tierische Infektionen) bezeichnet werden. In der überwiegenden Zahl der Fälle handelt es sich nicht um Infektionen mit einem Keim, sondern um Mischinfektionen. Von den 83 Arten der Clostridien kommen als Gasbrand- und Rauschbranderreger vor allem *C. perfringens, C. novyi, C. histolyticum, C. septicum, C. oedematiens* und *C. sordelli* in Betracht (s. Tab. 4.38).
Bei Gasbrandinfektionen werden häufig gleichzeitig auch apathogene Arten (*C. sporogens, C. bifermentans* u.a.) oder schwach toxinbildende Spezies (*C. sordellii, C. difficile,*) gefunden.

Geschichte
Gasbrand läßt sich bereits in den Schriften des HIPPOKRATES (460–377 v. Chr.) und bei CELSUS (30 v. Chr.–25 n. Chr.) nachweisen. Im frühen und späten Mittelalter wird wiederholt von dieser Krankheit berichtet. Eine klassische Schilderung des klinischen Bildes ist NIKOLAJ I. PIROGOFF (1810–1881) aus dem Krimkrieg zu

tionskrankheit auf, der Darmbrand (Enteritis necroticans), der gleichfalls durch Clostridien, durch *C. perfringens*, hervorgerufen wird.

Morphologie

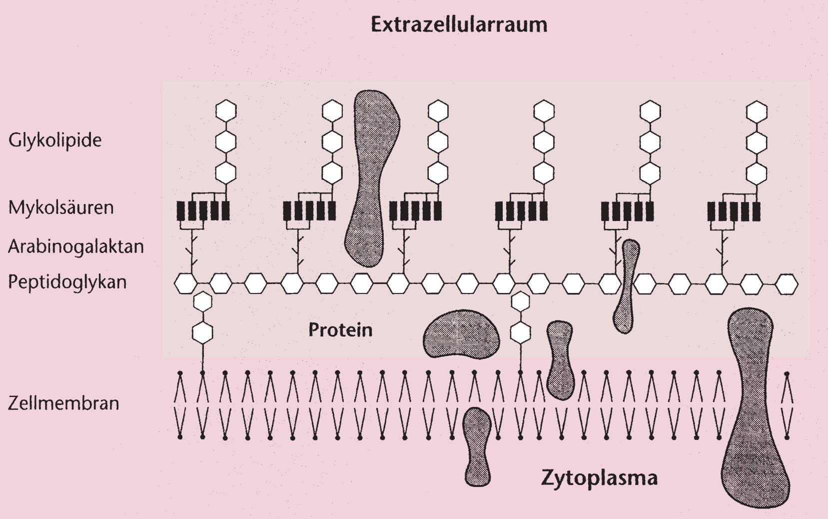
Mikroskopisch: Die Größe der Clostridien ist bei den einzelnen Arten unterschiedlich; i. allg. sind sie relativ groß und erreichen Längen bis zu 12 µm (Abb. 4.47, s. Farbtafel). Die Keime sind gram-positiv, in alten Kulturen kann die GRAM-Färbung negativ sein (am schnellsten bei *C. tetani,* s.o.). Die Sporen sitzen bei Gasbranderregern zentral, subterminal oder terminal. Meist sind sie dicker als die Breite des Stäbchens, das dadurch aufgetrieben wird. Mit Hilfe der peritrichen Begeißelung sind die Gasbranderreger beweglich; eine Ausnahme bildet das geißellose *C. perfringens*. Kapseln sind in Präparaten von menschlichem oder tierischem Material nachweisbar.
Kultur: Die Gasbranderreger wachsen anaerob, sind aber auch mikroaerophil. Während *C. tetani* sich nur unter anaeroben Verhältnissen oder bei einem niedrigen Redoxpotential vermehrt, sind die Gasbranderreger weniger empfindlich gegen Sauerstoff; *C. histolyticum* vermag sogar noch auf aeroben Blutplatten zu wachsen. Die Anzüchtung sollte jedoch nie unter aeroben Verhältnissen versucht werden.
Die Clostridien sind starke Proteolyten. Die pathogenen Arten verflüssigen in der Mehrzahl Gelatine. Weitere Fermentationsleistungen s. Tab. 4.37.

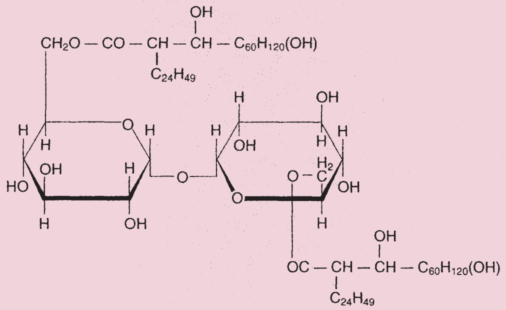
Pathogenese

Toxine: Gasbranderreger weisen ein breites Spektrum an Toxinen auf (Tab. 4.38). Die größte Anzahl von Toxinen bildet *C. perfringens*. Nach einer Wundinfektion mit Sporen beginnen diese auszukeimen, die vegetativen Formen bilden Toxine, die zur Myonekrose führen und dadurch die Zufuhr von Sauerstoff in das Gewebe weiterhin reduzieren und den Schaden damit noch verstärken. Eine Verminderung des Sauerstoffs erfolgt in der Regel zusätzlich durch mischinfizierende aerobe Keime.

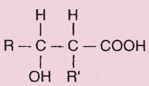
machen lassen. Der auffälligste Bestandteil der Mykobakterien ist ihre **lipidreiche Zellwand;** Lipide machen bis zu 60% des Trockengewichts aus. Diese lipidreiche Zellwand (Abb. 4.49) ist für viele Eigenschaften der Mykobakterien verantwortlich: Virulenz, intrazelluläre Persistenz, Hydrophobizität, relative Undurchlässigkeit für viele Farbstoffe, Resistenz gegen Säuren, Laugen und einfache Desinfektionsmittel, und – als wichtiges diagnostisches Merkmal – ihre Säurefestigkeit.

Unter **Säurefestigkeit** wird die charakteristische Eigenschaft der Mykobakterien verstanden, einen einmal aufgenommenen Farbstoff trotz Säurebehandlung beizubehalten. Bei der ZIEHL-NEELSEN-Färbung werden Mykobakterien unter Erhitzen mit Fuchsin gefärbt. Es entsteht ein stabiler Fuchsin-Mykolat-Komplex, der durch Behandlung mit Salzsäurealkohol nicht entfärbt werden kann. Nach Gegenfärbung mit Methylenblau erscheinen Mykobakterien leuchtend rot und die Begleitflora blau (Abb. 4.50, s. Farbtafel).





Mykolsäure



R = 60 C-Atome

R' =22 - 24 C - Atome [$(CH_2)_{21-23}$-CH3]

Wachse (allgemeine Strukturformel)

$CH_3-(CH_2)_{>20}-CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-(CH_2)_{>10}-CH_3$

Abb. 4.49 Schematische Darstellung der Mykobakterienzellwand; speziesspezifische Unterschiede sind nicht berücksichtigt.

Wichtige Lipide der Membran sind:

- **Cord-Faktor**: ein Glykolipid mit kovalent verknüpften Lipid- und Karbohydratresten (genaue Bezeichnung: 6,6'-Dimykolyltrehalose, s. Abb. 4.49b); diese Substanz findet sich bei Tuberkulosebakterien und wird für die charakteristische Zusammenlagerung dieser Mikroorganismen in Form zopfartiger Strukturen verantwortlich gemacht.
- **Mykolsäuren**: α-alkyl, β-hydroxy-Fettsäuren mit sehr langen Seitenketten (s. Abb.4.49c); mittels Arabinogalaktan werden die Mykolsäuren der Zellwand mit dem Peptidoglykangerüst verbunden.
- **Wachse**: Wachse sind Ester von langkettigen Fettsäuren mit langkettigen Fettalkoholen (> 20 C-Atome), die nur eine einzige Hydroxylgruppe besitzen (s. Abb. 4.49d); Bestandteil des Tuberkulins (als biologisch wirksame Komponente wurde das N-Acetyl-Muramyl-L-Alanin-D-Isoglutamin, abgekürzt: Muramyldipeptid, identifiziert); in einer Wasser/Öl-Emulsion verstärken diese Substanzen die Immunogenität von Antigenen (Einsatz als sog. FREUNDsches Adjuvans).

Neben diesen Lipiden findet man Sulfolipide, Mykoside, Phospholipide und Lipopolysaccharide. Wie bei

munabwehr. Bei der Immunabwehr mykobakterieller Erkrankungen spielen Antikörper keine Rolle, auch wenn im Verlauf einer Infektion Antikörper gegen verschiedene mykobakterielle Antigene gebildet werden.

Wesentliche **Pathogenitätsfaktoren**, die ein intrazelluläres Überleben der Mykobakterien ermöglichen, sind die **lipidreiche Zellwand** und der damit verbundene Schutz gegenüber zahlreichen bakterienschädigenden Noxen (z.B. Sauerstoffradikale) sowie die **Hemmung der Phagolysosomenfusion**. Mykobakterien produzieren Eisenkomplexbildner (sogenannte *Mykobaktine*), deren Kompetition mit eisenbindenden Substanzen des Wirts (z.B. Transferrin) möglicherweise eine Rolle als Pathogenitätsfaktor zukommt.

Entscheidend für die Immunabwehr mykobakterieller Infektionen ist die **Aktivierung von Ma-**

berkulöse Mykobakterien finden sich teilweise groteske Mengen phagozytierter Mykobakterien in zahlreichen inneren Organen wie Milz, Leber, Lymphknoten, Knochenmark und Darm. Der Funktionsverlust des betreffenden Organs bei diesen Patienten beruht auf einer Verdrängung und einem Ersatz des normalen Organaufbaus durch große Mengen mykobakterienhaltiger Makrophagen ohne Zeichen gewebsdestruierender Läsionen durch entzündungs- oder toxinvermittelte Schädigungen.

4.22.3 Laboratoriumsdiagnose

Anreicherung und Dekontamination

Die meisten Materialien – insbesondere Sputum und Urin – enthalten schnellwachsende Begleitkeime. Sie würden infolge Überwucherung die Isolierung der meist langsam wachsenden Mykobakterien verhindern und müssen daher vor Ansatz der Kulturen abgetötet werden. Dabei wird die im Vergleich zu anderen Mikroorganismen geringere Empfindlichkeit von Mykobakterien gegenüber Laugen ausgenutzt. Allerdings wird bei der Vorbehandlung auch ein Teil der Mykobakterien geschädigt.
Typisches Untersuchungsmaterial ist Sputum (nicht Speichel!). Durch Vorbehandlung mit geeigneten Substanzen wird ein Großteil der schneller wachsenden Begleitflora abgetötet und der zähe Schleim verflüssigt. Hierzu wird meist eine Kombination von NaOH und N-Acetylcystein eingesetzt. Zur Anreicherung wird das

eine semiquantitative Auswertung erfolgen (Tab. 4.41).
Die mikroskopische Untersuchung erlaubt lediglich die Aussage „säurefeste Stäbchenbakterien", eine Zuordnung zu einer bestimmten Spezies ist allein aufgrund der Morphologie nicht möglich. Häufig liegen Tuberkulosebakterien als Agglomerate zusammen, wobei sich zopfartige Strukturen („Cordfaktor") herausbilden.
Das Merkmal der Säurefestigkeit ist auch bei anderen Mikroorganismen anzutreffen, z.B. Kryptosporidien, Pilz- und Bakteriensporen, einzelnen Spezies der Gattungen *Nocardia*, *Rhodococcus* und *Corynebacterium*, so daß dieses Merkmal kein absolut sicheres Kriterium von Mykobakterien darstellt. Der mikroskopische Nachweis ist wenig sensitiv; die minimale Keimmenge, die erforderlich ist, um ein positives mikroskopisches Präparat zu ergeben, beträgt ungefähr $5x10^4$ Bakterien/ml. Abhängig von den Charakteristika des untersuchten Patientenkollektivs beträgt die Sensitivität der mikroskopischen Untersuchung etwa 25–65%.
Der Nachweis säurefester Bakterien ohne Identifizierung auf Speziesebene ist klinisch teilweise nur schwer zu verwerten:

- Es läßt sich nicht sicher beurteilen, ob es sich um einen behandlungsbedürftigen Befund handelt.
- Aufgrund der fehlenden Spezieszugehörigkeit ist das zu ergreifende therapeutische Regime unklar.

Kultur

4

Untersuchungsmaterial (paucibazilläre Infektionen!). Die Vorgehensweise im Labor ist schematisch in Abb. 4.51 dargestellt.
Untersuchungen sollten nur in einem speziellen **Sicherheitslabor** durchgeführt werden (u.a. Sicherheitswerkbank, Schutzkittel, Einweghandschuhe, Mundschutz). In erster Linie dienen die Sicherheitsvorkehrungen der Verhinderung einer Laborinfektion, z.B. durch Aerosolbildung und Keimverschleppung über direkten Kontakt. Für den Nachweis von Mykobakterien stehen mikroskopische, kulturelle und molekulargenetische Verfahren zur Verfügung, die sich zum Teil gegenseitig ergänzen. Serologische Nachweisverfahren spielen keine Rolle in der Diagnostik von Infektionen durch Mykobakterien. Das Meerschweinchen ist sehr empfänglich für Tuberkulosebakterien, so daß der diagnostische Tierversuch über viele Jahre als Nachweismethode der Wahl galt. Die zunehmende Verbesserung der kulturellen Nachweisverfahren hat den diagnostischen Tierversuch obsolet werden lassen.
Der rasche und zweifelsfreie Nachweis medizinisch bedeutsamer Mykobakterien ist bei Anwendung der klassischen mikroskopischen und kulturellen Verfahren nur bedingt möglich. Für die Diagnose der Tuberkulose ist der einmalige Nachweis von *Mycobacterium tuberculosis* beweisend. Für die Diagnostik von Krankheitsbildern, insbesondere von chronischen Lungen-



Abb. 4.51 Schematische Darstellung des diagnostischen Vorgehens bei Verdacht auf eine Infektion durch Mykobakterien.

affektionen, die durch nichttuberkulöse, fakultativ pathogene Mykobakterien verursacht werden, ist der einmalige Nachweis nicht ausreichend. Hier müssen weitere Kriterien erfüllt sein, wie beispielsweise mehrfacher Nachweis, typisches Krankheitsbild und eine entsprechende Histopathologie. Art und Gewinnung von Proben sind in Tab. 4.43 zusammengefaßt.

Molekulargenetische Verfahren

In den letzten Jahren haben sich genetische Verfahren einen festen Platz in der Mykobakteriendiagnostik gesichert.
Methoden: Mykobakterien können innerhalb weniger Stunden mittels Genamplifikationsverfahren direkt aus klinischem Untersuchungsmaterial nachgewiesen werden. Die meisten der etablierten Verfahren sind auf den **Nachweis** von Tuberkulosebakterien beschränkt, es gibt jedoch etablierte Methoden, die einen Nachweis und eine **Differenzierung** sämtlicher pathogener Mykobakterien ermöglichen.
Nachweis: Im Vergleich zur Kultur weisen die molekulargenetischen Nachweisverfahren bei paucibazillären Infektionen, die im mikroskopischen Direktpräparat negativ sind, eine **etwas geringere Sensitivität** von 60–75% gegenüber 70–80% bei einmaliger Probenuntersuchung auf. Diesem Sensitivitätsnachteil steht ein **wesentlich schnelleres Untersuchungsergebnis** innerhalb 1–2 Tagen gegenüber mehreren Wochen der Kultur.
Durch Untersuchung mehrerer Proben – bei hoher Spezifität des Testverfahrens – kann die Sensitivität erheblich gesteigert werden, ein Prinzip, das von der traditionellen Mykobakteriendiagnostik bekannt ist. Molekulargenetische Nachweisverfahren sind kostenintensive Spezialuntersuchungen, die die kulturellen Nachweisverfahren nicht ersetzen, sondern diese ergänzen. Sie sind nicht zur ungerichteten Ausschlußdiagnostik geeignet, ihr Einsatz beschränkt sich auf **definierte Indikationsgebiete**:
- *mikroskopisch positive Proben*, um eine rasche Identifizierung der Mikroorganismen zu ermöglichen,
- *patienten- und krankheitsbezogen*, z.B. immunsupprimierte Patienten, HIV-Infektion, Transplantation,
- *probenbezogen*, z.B. Biopsien und intraoperativ gewonnene Materialien,
- *begründeter klinischer Verdacht.*

Die traditionellen biochemischen Methoden zur

Tab. 4.43 Art und Gewinnung von Proben

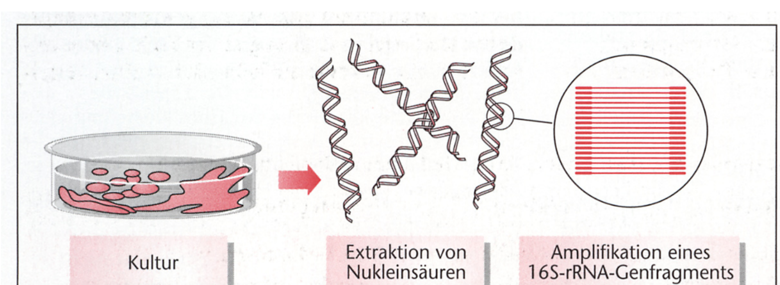
Kontaminiertes Material			
Material	**Gewinnung**	**Menge**	**Anmerkungen**
Sputum	vor dem Frühstück, Abhusten nach mehreren tiefen Inspirationen	5–10 ml	mindestens 3 Proben
Magensaft, Magenspülflüssigkeit	Patient nüchtern, Entnahme morgens; nach Sekretgewinnung Magen mit 20–30 ml steriler physiol. NaCl Lösung spülen	30–50 ml	3 Proben, Magensaft in Gefäße mit 1–2 ml gesättigter Na-Phosphatlösung füllen
Urin	Morgenurin (korrekt entnommen als Mittelstrahlurin)	50 ml	3 Proben, Lagerung bei 4 °C
Bronchialsekret	Sekret, Spülung	5–10 ml	

Steril entnommenes Material		
Material	**Menge**	**Anmerkungen**
Pleurapunktat	mind. 10 ml	nur Exsudate sind sinnvoll, zusätzliche Pleurabiopsie erhöht die Ausbeute
Liquor	mind. 2 ml	
Ergüsse, Abszeßpunktat	mind. 3–5 ml	aspiriertes Material (nicht Watteträger) verwenden
Biopsie-, Operationsmaterial	repräsentative Menge	in kleiner Menge steriler physiol. NaCl- Lösung einsenden (nicht fixieren)
Knochenmark	repräsentative Menge	nur bei Verdacht auf Miliartuberkulose bzw. Dissemination
Blut	8–10 ml	nur sinnvoll bei Verdacht auf Dissemination

Differenzierung von Mykobakterien werden zunehmend ersetzt durch molekulargenetische Untersuchungsmethoden, die mittlerweile die Differenzierungsmethode der Wahl darstellen; z.B. durch Identifizierung einer Region innerhalb des 16S-rRNA Moleküls, in der artenspezifische Nukleinsäuresequenzen anzutreffen sind (Tab. 4.44). Über den Einsatz von *in vitro* Genamplifikationsreaktionen werden die gewünsch-

verschlossenen Welt nichtkultivierbarer Mikroorganismen. Mittels Oligonukleotiden, die an hochkonservierte Regionen innerhalb des 16S rRNA Moleküls binden, können praktisch jedwede bakterielle 16S rRNA Genfragmente amplifiziert werden. Über nachfolgende Sequenzuntersuchungen wird das amplifizierte Genfragment analysiert. Der Einsatz dieser molekularen Methodik führte zur Entschlüsselung eines nichtkultivierbaren Mykobakteriums, welches in AIDS Patienten rätselhafte Septikämien auslöste,

4



Kultur
Extraktion von Nukleinsäuren
Amplifikation eines 16S-rRNA-Genfragments

gebnis der Resistenztestung erlaubt wichtige Schlußfolgerungen über den geeigneten therapeutischen Einsatz der untersuchten Substanz (resistent *versus* sensibel). Im Gegensatz dazu ist die Resistenzbestimmung bei nichttuberkulösen Mykobakterien nicht validiert, d.h. das Ergebnis der Resistenztestung (resistent *versus* sensibel) hat nur begrenzt Bezug zur *in vivo* Wirksamkeit der untersuchten Substanz. Es gibt zwei **Ausnahmen** von dieser Regel: **Makrolide und Aminoglykoside**. Hier sind die genetischen Resistenzmechanismen aufgeklärt und lassen einen Bezug zum Ergebnis der in-vitro Resistenztestung nichttuberkulöser Mykobakterien herstellen.

Die Empfindlichkeitsprüfung für Tuberkulosebakterien weist zwei in der Bakteriologie ungewöhnliche Besonderheiten auf, welche auf rein empirischen Erfahrungen basieren: die „*kritische Konzentration*" und die „*kritische Proportion*".

- **„Kritische Konzentration"** bedeutet, daß im Gegensatz zu der landläufig bekannten MHK-Bestimmung nur eine Konzentration des Tuberkulostatikums in der Empfindlichkeitsprüfung eingesetzt wird. Dieses ist die empirisch ermittelte, niedrigste Konzentration des Wirkstoffes im Testmedium, welche die empfindlichen Wildtypen hemmt, während resistente Mutanten wachsen; dieser Wert steht nur in einem losen Zusammenhang mit dem erreichbaren Serumspiegel.
- Der Begriff der **„kritischen Proportion"** besagt, daß die Resistenztestung nicht – wie in der Bakteriologie üblich – mittels einzelner, isolierter Klone durchgeführt wird, sondern mit einer repräsentativen Probe der gesamten *in vitro* kultivierten Population. Der Begriff entstand aus der klinischen Beobachtung, daß eine erfolgreiche Therapie nur dann zu erwarten ist, wenn weniger als 1% bzw. bei einigen Medikamenten weniger als 10% der Erregerpopulation resistent sind. Dementsprechend beinhaltet dieser Begriff das prozentuale Verhältnis resistenter Mutanten zur Gesamtheit der im Test untersuchten Erregerpopulation.

Tab. 4.45 gibt eine Übersicht über die gebräuchlichsten Chemotherapeutika mit antimykobakterieller Aktivität.

Resistenzmechanismen

Die Chemotherapie mykobakterieller Erkrankungen unterscheidet sich von der anderer Infektionskrankheiten. Aufgrund der Gefahr des Auftretens resistenter Mutanten und wegen synergistischer Antibiotikainteraktionen muß eine Kombinationstherapie unter Einschluß mehrerer aktiver Substanzen über mehrere Monate durchgeführt werden.

Die aus medizinischer Sicht lange **Behandlungsdauer** stellt sich aus biologischer Sicht etwas anders dar. Ein Parameter jedweder antibakteriel-

Tab. 4.45 Übersicht über die gebräuchlichsten Chemotherapeutika mit antimykobakterieller Aktivität

Chemotherapeutikum	Wirkort	Wirkung	Einsatzgebiet
Isoniazid	Zellwandsynthese	bakterizid	Tuberkulosebakterien
Rifampicin, Rifabutin	mRNA Synthese	bakterizid	Tuberkulosebakterien und nichttuberkulöse Mykobakterien
Pyrazinamid	unbekannt	bakterizid	Tuberkulosebakterien (nicht *M. bovis)*
Ethambutol	Zellwandsynthese	bakteriostatisch	Tuberkulosebakterien und nichttuberkulöse Mykobakterien
Streptomycin	Proteinbiosynthese	bakterizid	Tuberkulosebakterien sowie u.U. nichttuberkulöse Mykobakterien
Clarithromycin, Azithromycin, Roxithromycin	Proteinbiosynthese	bakteriostatisch	Mittel der ersten Wahl für die meisten nichttuberkulösen Mykobakterien
Amikacin, Kanamycin	Proteinbiosynthese	bakterizid	nichttuberkulöse Mykobakterien, Mittel der zweiten Wahl für Tuberkulosebakterien

ler Chemotherapie ist unter anderem die Länge der Therapie in Bezug zur Generationszeit des Krankheitserregers. Beispielsweise entspricht eine 6monatige Chemotherapie der Lungentuberkulose – bei einer Generationszeit von 12 Stunden des Mikroorganismus – ungefähr 360 Bakteriengenerationen. Bei den meisten anderen bakteriellen Infektionserregern mit einer Generationszeit von etwa 20 Minuten wäre diese Generationsabfolge bereits nach einer Behandlungsdauer von nur 5 Tagen erreicht, eine durchaus übliche Behandlungsdauer bei schweren Infektionen.
Die erworbene Resistenz von Mykobakterien gegenüber Chemotherapeutika beruht ausschließlich auf **chromosomalen Mutationen**; hochgradige Antibiotikaresistenz geht auf Mutationen in den Zielstrukturen der entsprechenden Chemotherapeutika zurück. Plasmidvermittelte Resistenzmechanismen sind nicht beschrieben (Tab. 4.46).

Die Aufklärung der molekularen Resistenzmechanismen gegenüber Antibiotika, die an der Proteinbiosynthese angreifen (Streptomycin, Aminoglykoside von 2–Deoxystreptamintyp, Makrolide) führte zur Entdeckung eines bislang bei Krankheitserregern unbekannten Resistenzmechanismus: resistenzvermittelnde Punktmutationen in ribosomalen RNAs (16S-rRNA, 23S-rRNA). Mutationen ribosomaler Nukleinsäuren als Ursache einer erworbenen Antibiotikaresistenz waren in bakteriellen Krankheitserregern bislang unbekannt. Dies hat seinen Grund darin, daß in Mikroorganismen mit einem genotypisch sensiblen Wildtyp-rRNA-Operon und einem genotypisch resistenten mutierten rRNA-Operon bei derartigen Chemotherapeutika der resistente Phänotyp rezessiv bzw. kodominant ist. Die meisten Krankheitserreger weisen mehrere rRNA-Gene in ihrem Genom auf (z.B. *E.* coli mit 7 rRNA-Operons). Im Gegensatz dazu verfügen Mykobakterien nur über 1–2 rRNA-Gene. Die-

muß, daß bei manifester Tuberkuloseerkrankung zum Zeitpunkt der Chemotherapie bereits eine große Anzahl monoresistenter Mutanten vorhanden ist. Die Mutationsrate gegen zwei oder mehr Chemotherapeutika entspricht dem Produkt der Mutationsrate gegenüber jedem einzelnen Wirkstoff. Damit ist die Wahrscheinlichkeit der Entstehung einer Spontanmutante, die eine Resistenz gegen drei Wirkstoffe gleichzeitig aufweist, praktisch ausgeschlossen. Daraus resultiert die Forderung nach Verwendung einer **Kombinationstherapie**.

4.22.4 Tuberkulose

Zu den Tuberkulosebakterien gehören *M. tuberculosis* (in der älteren Literatur Typus *humanus* genannt), *M. africanum* (eine Variante von *M. tuberculosis,* die in Afrika anzutreffen ist), *M. bovis* (Erreger der Rindertuberkulose), der Impfstamm *M. bovis BCG* sowie *M. microti* (Erreger der Mäusetuberkulose). Die Bezeichnung der verschiedenen Organismen und deren Einordnung als eigenständige Spezies hat historische Gründe und geht zurück auf die unterschiedlichen Wirte, die bevorzugt befallen werden. Neuere Studien belegen, daß die verschiedenen Tuberkulosebakterien als Varianten bzw. Subspezies angesehen werden müssen, so daß sie in der neueren Literatur als *M. tuberculosis*-Komplex zusammengefaßt werden. Für den Menschen pathogen sind *M. tuberculosis, M. africanum* und *M. bovis*.

Pathogenese

Die Lunge ist die mit Abstand wichtigste Ein-

gehend kann der Erreger auf hämatogenem und lymphogenem Weg disseminieren und in verschiedene Organe gelangen. Die histopathologischen Veränderungen der befallenen Lymphknoten und der betroffenen Organe sind nicht von der humanen Tuberkulose zu unterscheiden.

Krankheitsauslösende Faktoren

Verschiedene Faktoren beeinflussen die Entwicklung einer Tuberkuloseerkrankung:

- genetische Faktoren (z.B. sind Eskimos und Indianer besonders empfänglich),
- Unter- und Mangelernährung, schlechte soziale Verhältnisse,
- Alter (Kleinkinder < 3 J., Reaktivierung im Erwachsenenalter besonders > 60 J.),
- angeborene Immundefizienzen, erworbene Immunschwächen (Cortison- und Zytostatikabehandlung, AIDS, Alkoholismus, insulinpflichtiger Diabetes mellitus).
- die Silikose ist ein besonderer Risikofaktor für die Entwicklung einer Lungentuberkulose.

Es wird geschätzt, daß ca. 10% der mit *M. tuberculosis* Infizierten im Verlauf ihres Lebens an Tuberkulose erkranken, wobei zwei Drittel der Krankheitsfälle in den ersten beiden Jahren *post infectionem* auftreten. Das Risiko, nach Infektion an Tuberkulose zu erkranken, ist abhängig vom Alter: das Risiko ist am größten bei Kindern unter 3 Jahren sowie bei alten Menschen. Während bei Immunkompetenten das Risiko, nach Infektion an Tuberkulose zu erkranken, für die gesamte Lebensperiode etwa 10% beträgt, wird dieses Risiko bei HIV-Patienten mit 30–50 % für die ersten beiden Jahre nach Infektion und mit 10% für jedes weitere Jahr veranschlagt.

Die noch weitgehend unbekannten genetischen Wirtsfaktoren, die die Entwicklung einer Tuberkulose beeinflussen, werden durch einen tragischen Unglücksfall 1930 in Lübeck verdeutlicht.

charakteristisch und umfassen Fieber, Gewichtsverlust, Schwächegefühl und Nachtschweiß; das weitere klinische Krankheitsbild hängt vom betroffenen Organismus ab; prinzipiell kann jedes Organ infiziert werden.

Lungentuberkulose: (häufigste Form der Tuberkulose, > 90%): Husten, Auswurf, Dyspnoe, häufig exsudative Begleitpleuritis, später Hämoptysen

Nierentuberkulose: Dysurie, schmerzhafte Nierenlager, sterile Leukozyturie, Hämaturie, später Niereninsuffizienz

Meningitis tuberculosa: Benommenheit, Kopfschmerz, Schwindel, häufig Nackensteifigkeit, Ausfallerscheinungen der basalen Hirnnerven (im Gegensatz zu anderen bakteriellen Meningitiden ist bei der tuberkulösen Meningitis die Schädelbasis befallen)

Lymphadenitis: schmerzhafte Lymphknotenschwellungen

Knochen- und Gelenktuberkulose: Krankheitserscheinungen abhängig von der Lokalisation, häufig im Bereich der Rückenwirbel (Spondylodiscitis, Abb. 4.54)

Diagnose

Als diagnostische Verfahren kommen bildgebende Verfahren, Tuberkulintestung und der mikrobiologische Nachweis zum Einsatz.

Tuberkulintestung: Der Kontakt mit Mykobakterien kann immunologisch über die Tuberkulinreaktion nachgewiesen werden; das klassische Beispiel einer verzögerten allergischen Reaktion. Grundlage dieser Reaktion sind

- ortsständige, antigenpräsentierende Makrophagen,
- antigenspezifische T-Lymphozyten und
- Blutmonozyten, die durch die zytokinsezernierenden T-Lymphozyten an den Ort der Antigenapplikation gelockt werden.

Da die verabreichten Antigene löslich sind und

4



nach wie vor Gültigkeit besitzen, da nicht neuartige Mechanismen das Phänomen der Multiresistenz verursachen, sondern bekannte Vorgänge der schrittweisen Selektion resistenter Mutanten als Ausdruck einer fehlerhaft durchgeführten Therapie.

Vereinzelt wurde über eine erfolgreiche Chemotherapie multiresistenter Tuberkulose mittels Standardtuberkulostatika berichtet. Die *in vitro* Untersuchung der antibiotischen Empfindlichkeit von Mykobakterien beinhaltet eine historische Besonderheit (s. Kap. 4.22.3): bestimmt wird nicht die minimale Hemmkonzentration (MHK), sondern die Empfindlichkeit oder Resistenz gegenüber einer definierten Konzentration, die als kritische Konzentration bezeichnet wird. Diese kritische Konzentration hat keinen direkten Bezug zu den therapeutisch erreichbaren Serum- und Gewebespiegeln, sondern hat sich aufgrund zurückliegender Erfahrungen als die Antibiotikakonzentration erwiesen, die zuverlässig zwischen sensiblen Wildtyp-Stämmen und resistenten Stämmen unterscheidet. Unabhängig von dem molekularen Resistenzmechanismus und der tatsächlichen Resistenzhöhe (hochgradig, geringgradig) werden sämtliche Isolate, deren Hemmkonzentration über der kritischen Konzentration liegt, als resistent bezeichnet.

Es ist leicht nachvollziehbar, daß eine geringgradige Resistenz – die auch häufig Ausdruck einer Permeabilitätsschranke ist – sich klinisch anders auswirken muß als eine hochgradige Resistenz. Dies um so mehr, als die Kombinationstherapie mit Substanzen durchgeführt wird, die an der Zellwandsynthese angreifen, z.B. Isoniazid, Ethambutol (vom Prinzip her ähnlich wie die synergistisch wirksame Betalaktam/Aminoglykosidkombination bei Enterokokken mit geringgradiger Aminoglykosidresistenz). Es muß daher überdacht werden, ob nicht bei einem mittels der kritischen Konzentration als resistent bestimmten Isolat eine genaue Untersuchung der MHK erfolgen sollte, um den tatsächlichen Grad der Resistenz (geringgradig, hochgradig) zu bestimmen.

Epidemiologie und Prophylaxe

Die Tuberkulose ist auf der gesamten Erde verbreitet. Seit Beginn des vorigen Jahrhunderts war in den entwickelten Industrienationen eine kontinuierliche Abnahme der Inzidenz an Tuberkuloseerkrankungen zu verzeichnen, unterbrochen durch die beiden Weltkriege. Die Tuberkulose hat sich hier zunehmend zu einer Alterskrankheit entwickelt (Abb. 4.55).

Diese Entwicklung hat sich nicht auf der ganzen Welt vollzogen. Im weltweiten Maßstab gesehen ist die Tuberkulose die wichtigste Tropenerkrankung und bedeutsamste Infektionskrankheit überhaupt. Ein Drittel der Weltbevölkerung ist mit *M. tuberculosis* infiziert. Weltweit sind schätzungsweise 60 Millionen Menschen an Tuberkulose erkrankt, jährlich kommen etwa 10 Millionen neue Fälle offener Lungentuberkulosen hinzu. Drei Millionen Menschen sterben jährlich an Tuberkulose, mehr Menschen als an irgendeiner anderen Infektionskrankheit. Die Inzidenz liegt zwischen 200–400/100 000 in endemischen Gebieten Afrikas und 10–50/100 000 in den entwickelten Industrienationen (Tab. 4.48). In den Industrieländern ist die Tuberkulose eine Erkrankung der älteren Bevölkerung, ethnischer Minderheiten, sozialer Randgruppen und Immigranten aus Endemiegebieten; große regionale Unterschiede sind im wesentlichen auf soziale Probleme zurückzuführen (z.B. Obdachlosigkeit, Alkoholismus, urbanes HIV- und Drogenproblem, Slumentwicklung in den Großstädten, s. Tab. 4.49). In den Entwicklungsländern sind überwiegend junge Erwachsene und Kinder von der Erkrankung betroffen.

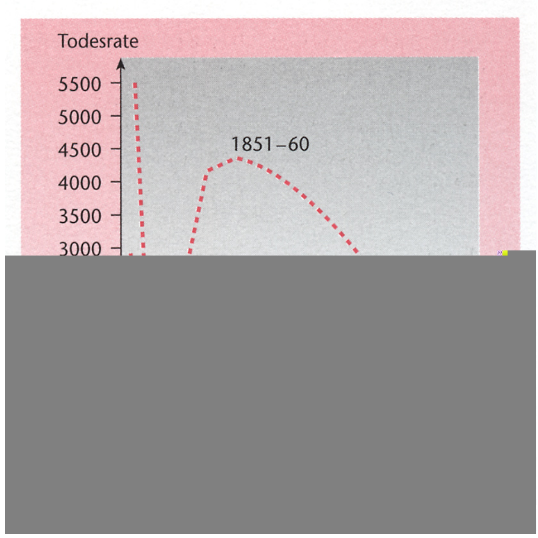


Abb. 4.55 Altersverteilung der Tuberkulose; Todesfälle pro Million Einwohner in England und Wales (aus: WILSON, G.S. and A.A. MILES: „Principles of Bacteriology and Immunity", 5th ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1964, Edward Arnold Publishers Ltd.).

Wichtigste **Infektionsquelle** ist der Mensch. Gesunde Ausscheider existieren nicht. Die Übertragung erfolgt in der Regel als Tröpfcheninfektion. Tuberkulosebakterien sind relativ resistent gegenüber Umwelteinflüssen und sind in feuchter oder trockener Umgebung bis zu 6 Wochen lebensfähig, werden jedoch durch UV-Licht rasch abgetötet.

Prädisponierende Faktoren für das Auftreten von *M. tuberculosis*-Infektionen bzw. Erkrankungen sind eine große Bevölkerungs- und Wohndichte mit der dadurch gegebenen Übertragungsmöglichkeit, schlechte Ernährung, Alter unter 3 bzw. über 60 Jahren, bestimmte Erkrankungen wie Diabetes mellitus sowie iatrogene, angeborene oder erworbene Immundefizienzen.

Die **Infektiosität** eines Ausscheiders (typischerweise offene Lungentuberkulose) ist abhängig von der Anzahl ausgeschiedener Tuberkulosebakterien: so läßt sich bei der Hälfte der Haus-

Region	Anzahl	Anteil an Gesamtfällen	Inzidenz (pro 100 000)
Afrika	1 365 000	17%	230
Südostasien	2 570 000	32%	198
China	2 127 000	27%	191
Westpazifik	420 000	5%	191
Östlicher Mittelmeerraum	594 000	7%	155
Zentral- und Südamerika	534 000	7%	120
Europa, USA, Australien, Neuseeland, Kanada	392 000	5%	31
Gesamt	8 002 000	100%	152

Tab. 4.48 Geschätzte Erkrankungsfälle an Tuberkulose (1990, Daten der WHO)

haltskontakte multibazillärer Tuberkulosepatienten (mikroskopisch positiv) eine Infektion nachweisen, während dies nur bei 5% der Fall ist, wenn es sich um paucibazilläre Ausscheider (mikroskopisch negativ) handelt. Etwa 10% der Infizierten entwickeln eine Erkrankung; von den Erkrankten sind wieder ein Drittel bis die Hälfte mikroskopisch positiv, d.h. in einem epidemiologisch relevanten Sinn infektiös. Ausgehend von diesen Zahlen lassen sich die numerischen Verhältnisse kalkulieren, die für ein endemisches Auftreten der Tuberkulose notwendig sind. Unter der Annahme, daß nur 10% der Infizierten klinische Zeichen einer Tuberkuloseerkrankung entwickeln und daß von den Erkrankten nur die Hälfte in epidemiologisch relevantem Ausmaß infektiös ist, kann geschlossen werden, daß ein Fall infektiöser offener Tuberkulose statistisch gesehen 20 Kontaktpersonen infizieren muß, um selbst einen Fall infektiöser Tuberkulose zu verursachen und somit die Inzidenz an Tuberkuloseerkrankungen auf konstantem Niveau zu halten.

Zwischen der Inzidenz von Neuinfektionen und dem Verhältnis exogener Infektion zu endogener Reaktivierung besteht ein enger Zusammenhang: je höher die Inzidenz an Neuerkrankungen, desto geringer die Bedeutung endogener Reaktivierungen, umgekehrt sind in den entwickelten Industrieländern mit einer gegenüber den Entwicklungsländern deutlich geringeren Tuberkuloseinzidenz ein Großteil der klinisch manifesten Tuberkulosefälle auf endogene Reaktivierungen zurückzuführen.

Tuberkulosebakterien sind widerstandsfähiger als andere Bakterien gegen viele **Desinfektionsmittel**; daher dürfen nur solche Desinfektionsmittel eingesetzt werden, deren Wirksamkeit gegen Tuberkulosebakterien geprüft worden ist.

Eine wirksame Bekämpfung der Tuberkulose erfordert **Maßnahmen zur Unterbrechung von Infektketten:**

Risikogruppe	Inzidenz (pro 100 000)
Obdachlose (Glasgow)	1946
Obdachlose (Boston)	317
Gefängnisinsassen (New York)	105
Altersheimbewohner	
Tuberkulinpositiv bei Aufnahme	2400
Tuberkulinkonverter	5900
Tuberkulinpositve Flüchtlinge aus Indochina	
alle Altersgruppen	926
> 65 J.	7160
Dialysepatienten (San Franzisko)	5800
Ostindische Dialysepatienten (London)	25 000
AIDS Patienten (Haiti)	60 000

Tab. 4.49 Tuberkuloseinzidenz in Risikogruppen

- Rasche Behandlung erkrankter Patienten
- Umgebungsuntersuchungen erkrankter Patienten, um die Infektionsquelle zu finden
- Untersuchung von Kontaktpersonen mittels Tuberkulintestung und/oder Röntgenuntersuchung, ggf. Durchführung einer Chemoprophylaxe
- Überwachung von Risikogruppen; z.B. Immigranten aus Entwicklungsländern, beruflich exponierte Personen (z.B. Mitarbeiter einer Lungenklinik)
- Krankheitsprävention durch Impfung oder Chemoprophylaxe.

Die Eradikation der bovinen Tuberkulose fußt auf zwei Maßnahmen:

- Tötung tuberkulin-positiver Rinder
- Pasteurisierung sämtlicher Milchprodukte.

Die Rinderbestände in Deutschland sind weitgehend tuberkulosefrei, nur noch vereinzelt treten Fälle von Tuberkulose bei Rindern auf.
Erkrankung und Tod an Tuberkulose sind **meldepflichtig**. Infektionsquellen müssen früh erkannt und einer Behandlung zugeführt werden. Patienten mit offener Tuberkulose müssen während der infektiösen Ausscheidungsphase isoliert werden.
Der behandelnde Arzt hat die Compliance des Patienten sicherzustellen; bei uneinsichtigen Patienten, die sich einer entsprechenden Behandlung verweigern, sieht das Seuchengesetz die Einweisung zur stationären Therapie auch gegen den Willen des Patienten vor.

Prophylaxe und Schutzimpfungen

Es existiert ein **Lebendimpfstoff**, ein über mehrfache Kulturpassagen attenuierter Stamm von *M. bovis*, der nach den Entdeckern CALMETTE und GUÉRIN Bacille Calmette-Guérin (*M. bovis* BCG) genannt wird. Die Impfung kann bereits in den ersten Lebenswochen durchgeführt werden und bewirkt dann einen gewissen Impfschutz, der ungefähr 10 Jahre anhält. Die Impfung verhindert in erster Linie die Entstehung einer Miliartuberkulose und tuberkulöser Meningitis im Kindesalter. Die Impfung verhindert nicht die Infektion mit *M. tuberculosis*, jedoch ist die Häufigkeit einer nachfolgenden Tuberkuloseerkrankung bei Geimpften etwa 7–20 mal niedriger als bei Nichtgeimpften. Die Effizienz der Impfung ist umstritten; noch unbekannte Faktoren (genetische Disposition) scheinen eine wichtige Rolle zu spielen.

Unklar ist die **Effektivität des Impfschutzes** bei erstmaliger Impfung im Erwachsenenalter. Vor jeder Impfung sollte eine Tuberkulintestung durchgeführt werden (nicht bei Neugeborenen), um überschießende lokale Reaktionen am Ort der Injektionsstelle bei tuberkulinpositiven Personen zu vermeiden.
Die **Nebenwirkungen** von BCG sind gering. Nur vereinzelt kommt es zu lokalen Nekrosen, Narben- und Abszeßbildungen. Größtes Problem bei der Impfung von Kleinkindern während der ersten Lebenswochen sind nicht erkannte Immundefizienzen (z.B. SCID), unter diesen Umständen kann eine BCG-Impfung schwerste disseminierte Infektionen mit tödlichem Verlauf verursachen. Absolute Kontraindikation für eine Impfung sind sämtliche Zustände von erworbenen (z.B. AIDS) oder angeborenen Immundefizienzen.
BCG bewirkt eine **Tuberkulinkonversion**, so daß dadurch eine spätere Tuberkulintestung als diagnostische Untersuchung aussagelos wird, da nicht zwischen Infizierten und Geimpften unterschieden werden kann. In Ländern mit geringer Tuberkuloseprävalenz ist der Wert der BCG-Schutzimpfung als generelle Maßnahme umstritten; der Verhinderung einer Miliartuberkulose und tuberkulösen Meningitis stehen Impfkomplikationen bei angeborenen Immundefizienzen und Ausschluß der Tuberkulintestung als diagnostische Untersuchung gegenüber. In Ländern mit geringer Tuberkuloseprävalenz und hohem medizinischen Versorgungsgrad gibt es daher durchaus stichhaltige Argumente gegen eine generelle BCG-Impfung. In Deutschland wird die BCG-Impfung bei gefährdeten Personen angeraten, z.B. Kinder in Haushalten von Erkrankten mit offener Tuberkulose, ärztliches Personal.

Andere Länder, besonders die USA und die Niederlande, haben in Anbetracht einer geringen Durchseuchung von Anfang an auf die BCG-Impfung verzichtet und setzen als Dispositionsprophylaxe eine Chemotherapie mit Isoniazid für die Dauer von 6 Monaten ein. Diese **Chemoprophylaxe**, also die Therapie einer klinisch inapparenten Infektion, hat sich besonders bei Risikopatienten bewährt, wie z.B. Kontaktpersonen, die aufgrund des Kontakts tuberkulinpositiv wurden; Haushaltsangehörige von Patienten mit offener, mikroskopisch positiver Lungentuberkulose (besonders Kinder < 4 J.); tuberkulinpositive Personen, die ein erhöhtes Risiko für eine Krankheitsentwicklung aufweisen (immunsuppressive Therapie, Alkoholismus). Zur Chemoprophylaxe, d.h. bei entsprechender Exposition, ist eine Monotherapie mit Isoniazid ausreichend, da unter diesen Bedingungen nur geringe Keimmen-

gen (< 10^3) anzutreffen sind, so daß die Gefahr einer Resistenzentwicklung kaum ins Gewicht fällt.
Der Einsatz der Chemoprophylaxe als Infektionskontrolle erfordert die Behandlung sämtlicher tuberkulinpositiver Personen < 30 J. sowie kürzlich zurückliegender Tuberkulinkonverter (innerhalb 2–3 Jahre) unabhängig vom Alter. Die Chemoprophylaxe bei Tuberkulinkonvertern hat eine **Effektivität** von 60–80%, wobei die Effektivität abhängig ist von der zeitlichen Beziehung zwischen Infektion und Chemoprophylaxe: je kürzer zurückliegend die Tuberkulinkonversion, umso erfolgreicher die Chemoprophylaxe. Lang zurückliegende Tuberkulinkonversionen (> 5 Jahre) sind einer Chemoprophylaxe kaum mehr zugänglich.

4.22.5 Nichttuberkulöse Mykobakterien

Die nichttuberkulösen Mykobakterien wurden erst lange nach der Beschreibung des Tuberkulosebakteriums als eigenständige Krankheitserreger erkannt. Molekulargenetische Identifizierungsverfahren haben in den letzten Jahren einen wesentlichen Beitrag zur Beschreibung zahlreicher neuer, bislang unbekannter humanpathogener Mykobakterien geleistet; mehr als 20 verschiedene nichttuberkulöse Mykobakterienarten (s. Tab. 4.40) sind als Krankheitserreger beschrieben.

Pathogenese und krankheitsauslösende Faktoren

Nichttuberkulöse Mykobakterien vermehren

weisen im allgemeinen eine geringe Virulenz auf, so daß prädisponierende Faktoren für die Entwicklung einer Erkrankung notwendig sind. Infektion und Erkrankung sind – abgesehen von streng lokalen Infektionen – meist nur dann zu beobachten, wenn die T-Zell-abhängige Makrophagenaktivierung gestört ist bzw. wenn lokale Schädigungen (beispielsweise der Lunge) vorliegen.
Tab. 4.50 faßt die bekannten Risikofaktoren zusammen.
Die zentrale Bedeutung der zellulären Immunabwehr zeigt sich an dem Krankheitsbild der disseminierten Infektion durch nichttuberkulöse Mykobakterien. Vor Beginn der „AIDS-Ära" waren derartige Infektionen praktisch unbekannt. Bei AIDS-Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung (CD4 T-Zellen < 50/µl) sind disseminierte Infektionen mit nichttuberkulösen Mykobakterien die häufigste bakterielle Infektion der AIDS-Erkrankung. Bei diesen Patienten finden sich teilweise groteske Keimmengen in den betroffenen Organen. Histologisch findet sich ein Ersatz des normalen Organaufbaus durch große Mengen mykobakterienhaltiger Makrophagen; Zeichen einer granulomatösen Entzündungsreaktion fehlen (Abb. 4.56).

Klinisches Bild

Die wichtigsten, durch nichttuberkulöse Mykobakterien hervorgerufenen Krankheitsbilder

Tab. 4.51 Durch nichttuberkulöse Mykobakterien verursachte Krankheitsbilder

Erkrankung	häufig beteiligte Mykobakterien
Lungenerkrankungen	*M. avium, M. intracellulare, M. kansasii, M. chelonae, M. abscessus, M. xenopi, M. malmoense*
Lymphadenitiden	*M. avium, M. malmoense, M. interjectum, M. lentiflavum*
Haut- und Weichteilinfektionen	*M. marinum, M. ulcerans, M. chelonae, M. abscessus, M. haemophilum*
Knochen- und Gelenkinfektionen	verschiedene nichttuberkulöse Mykobakterien
Disseminierte Infektionen	*M. avium, M. genavense*
Wund- und Fremdkörperinfektionen	*M. chelonae, M. abscessus, M. fortuitum, M. mucogenicum*

finden sich lokale Schädigungen der Lunge (z.B. Zystische Fibrose, Bronchiektasien, Emphysem, Silikose). Symptome sind chronischer Husten und Auswurf. Komplikationen sind persistierende Hämoptysen und respiratorische Insuffizienz. Der Verlauf ist chronisch-progressiv und rezidivierend mit langen stationären Krankheitsphasen. Die röntgenologischen Veränderungen können (Abb. 4.57) ähnlich der Tuberkulose, aber auch sehr diskret sein und sich nur mittels hochauflösender Computertomographie nachweisen lassen; hier finden sich dann perihiliäre Lymphknotenvergrößerungen und periphere Bronchiektasien.

Chronische, durch nichttuberkulöse Mykobakterien verursachte **Lymphadenitiden** finden sich in der Regel bei ansonsten gesunden Kindern (< 5 J.) und sind meist einseitig im Bereich der zervikalen, submandibulären oder submaxillären Lymphknoten lokalisiert, prädisponierende Ursachen finden sich meist nicht.

Die durch nichttuberkulöse Mykobakterien verursachten **Haut- und Weichteilinfektionen** umfassen zwei charakteristische Krankheitsbilder: das Buruli-Ulkus und das Schwimmbadgranulom.

Das **Buruli-Ulkus** wird durch *M. ulcerans* verursacht. Sein Vorkommen ist auf die Tropen beschränkt; das Krankheitsbild wird durch große, destruierende Hautulcera geprägt, die in der Tiefe Muskel- und Knochenfaszien durchbrechen können und häufig sekundär infizieren.

Auslöser des **Schwimmbadgranuloms** ist *M. marinum*; Erkrankungen finden sich nach Schwimmbadbenutzung und bei Aquarienbesitzern. Es finden sich oberflächliche kleine Papeln mit Knotenbildung und warzenähnliche Läsionen, die ulcerieren können; das Krankheitsbild zeigt einen chronischen, mehrmonatigen Verlauf mit ausgeprägter Selbstheilungstendenz.

Die weiteren, durch nichttuberkulöse Mykobakterien verursachten Haut- und Weichteilinfektionen sind meist posttraumatischer Natur oder lokalisierte Spritzenabzesse als Folge unsteriler Injektionstechnik (häufig *M. chelonae*).

Wund- und Fremdkörperinfektionen: Posttraumatisch oder durch infizierte Fremdkörper (z.B. künstliche Implantate, Herzklappenersatz);

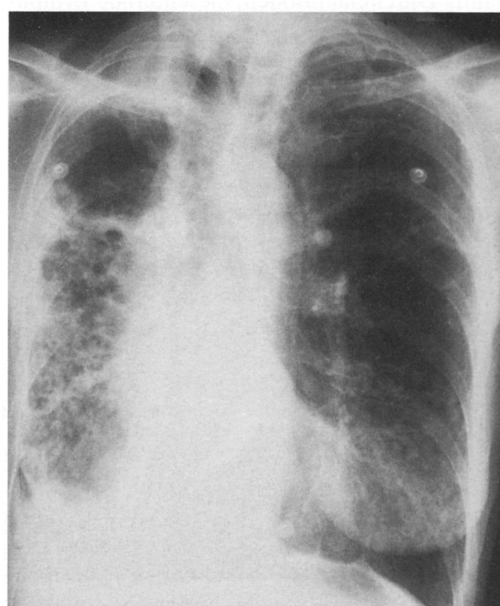
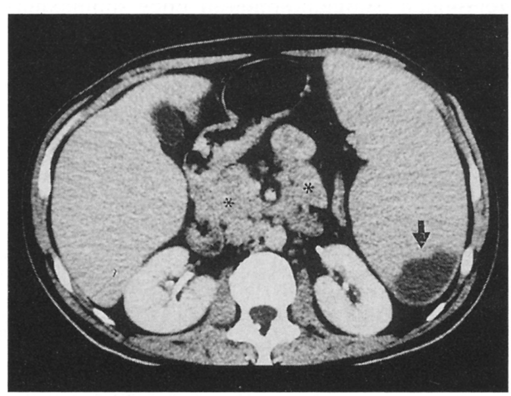


Abb. 4.57 Destruktive Mykobakteriose der Lunge (*Mycobacterium interjectum*); die Röntgenaufnahme wurde dankenswerterweise von Prof. B. Hirschel, Genf, zur Verfügung gestellt.

4





- **Haut- und Weichteilinfektionen:** Biopsien, Punktate
- **Knocheninfektionen:** operativ gewonnene

Epidemiologie

Atypische Mykobakterien sind ubiquitär in der

angenommen. *M. leprae* befällt vorzugsweise Zellen der Haut und das periphere Nervensystem; ein möglicher Grund für diesen Organtropismus ist das mit 27–30 °C relativ niedrige Temperaturoptimum des Erregers.

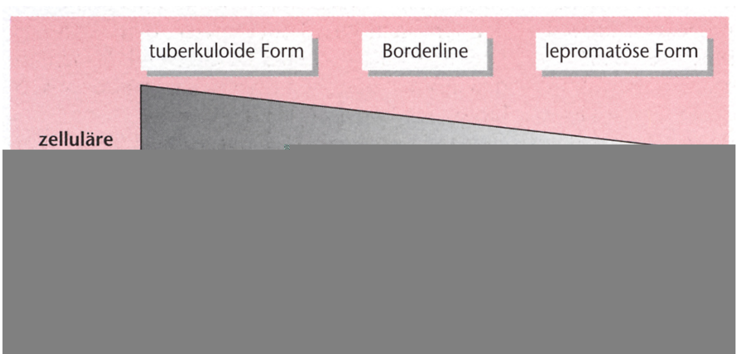
Pathogenese

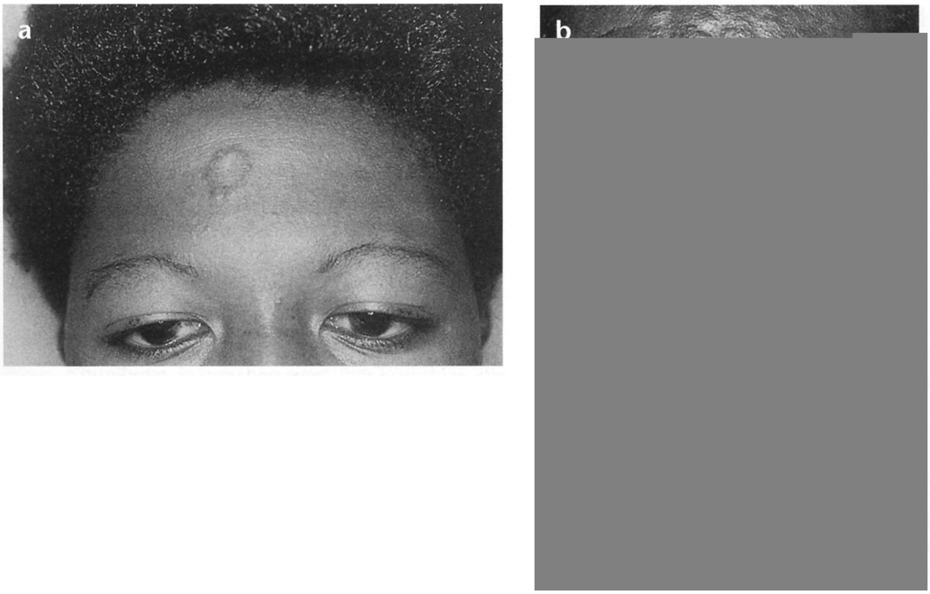
Die Lepra ist eine chronisch verlaufende Infektionskrankheit. *M. leprae* ist ein obligat intrazellulärer Mikroorganismus (Vermehrung vorwiegend in Makrophagen und SCHWANNschen Zellen) mit einem ausgeprägten Organtropismus für die Haut und das periphere Nervensystem; Rückenmark und zentrales Nervensystem blei-

mischte Verlaufsformen (Erkrankungen vom Borderline Typ) anzutreffen (s. Abb. 4.61).

Klinisches Bild

Die klinischen Manifestationen der Lepra äußern sich vorwiegend im Befall der Haut, peripherer Nerven und der Schleimhaut des Nasen-Rachenraumes. Die Inkubationszeit beträgt beim Erwachsenen 3–10 Jahre.
Die Erkrankung beginnt meist uncharakteristisch (sogenannte indeterminierte Phase); in der Mehrzahl der Fälle heilt die Erkrankung später aus; in einem Teil der Fälle schreitet sie zu einer der spezifischen Verlaufsformen (lepro-




a
b

Therapie

Die Lepra ist chemotherapeutisch behandelbar. Zum Einsatz kommt eine Mehrfachkombination mit Dapson, Rifampicin und Clofazimin. Bei paucibazillärem, mild verlaufendem Krankheitsverlauf gilt die Behandlung mit Dapson und Rifampicin als ausreichend. Die Chemotherapie muß über mindestens sechs Monate durchgeführt werden; häufig ist eine Behandlungsdauer über viele Jahre notwendig. In derzeit laufenden klinischen Studien wird die Wirksamkeit von Chinolonen und Makroliden (Clarithromycin, Azithromycin) untersucht.

Epidemiologie und Bekämpfung

Der Mensch ist der einzig bedeutsame Wirt, obwohl vereinzelt natürliche Infektionen bei Affen und Gürteltieren beschrieben wurden. Als **Infektionsquelle** kommen vor allem Patienten mit lepromatöser Lepra in Betracht; die Übertragung erfolgt durch kontinuierlichen Kontakt (offene Hautläsionen, Tröpfcheninfektion durch Patienten mit Befall der Nasen-Rachenschleimhaut).

Die Kontagiosität der Lepra ist umstritten; in den meisten Fällen (> 95%) kommt es lediglich zu einer subklinischen Infektion, die spontan ausheilt.

Die WHO schätzt, daß etwa 5 Millionen Menschen an Lepra erkrankt sind und daß jährlich etwa 500.000 Neuerkrankungen auftreten; 70% der Fälle finden sich in Süd-Ostasien, 15% in Afrika, 10% in Südamerika und 5% im westpazifischen Bereich. In Europa gilt die Lepra als ausgerottet, obwohl im südlichen Mittelmeerraum (Türkei, Nordafrika, Naher Osten) noch etwa 20.000 Fälle gemeldet sind. In endemischen Gebieten beträgt die Prävalenz etwa 1–100 pro 1000 Einwohner. Die Mortalität ist niedrig; Todesfälle sind in erster Linie auf sekundäre Infektionen und Verletzungen durchzuführen.

Meldepflichtig sind Verdacht, Krankheit und Tod sowie der direkte oder indirekte Keimnachweis.

Ein wirksamer **Impfstoff** steht nicht zur Verfügung. Unabhängig von der noch unklaren Kontagiosität sind Infektionen nur bei längerdauernder Krankheit zu beobachten.

Literatur

HAAS, D. W., and R. M. DES PREZ: *Mycobacterium tuberculosis*,. In: „Principles and practice of infectious diseases“, (Eds. MANDELL, G. L., J. E. BENNETT and R. DOLIN), 4th Edition, Churchill Livingstone, New York, U.S.A., 1995, p. 2213–2242)

KAUFMANN, S.H.E. Immunity to intracellular bacteria. In: „Fundamental Immunology“, 4th Edition (PAUL, W.E., Ed.), Lippincott-Raven, New York, 1999

ROBERTS, G.D., E.C. BÖTTGER and L. Stockman:. Methods for rapid identification of mycobacterial species. In: „Clinics in Laboratory Medicine“, 1996, Vol. 16: 603–616, W.B. Saunders, Philadelphia, U.S.A.

SALFINGER, M., und F.M. KAFADER: Mycobacteriaceae. In: „Mikrobiologische Diagnostik“, (Hrsg.: F. BURKHARDT, Thieme Verlag, Stuttgart, 1992, S. 269–288

SANDER, P., and E.C. BÖTTGER Mycobacteria: genetics of resistance and implications for treatment. Chemotherapy 45 (1999) 95–108

WALLACE, R.J., JR., J. GLASSROTH, D.E. GRIFFITH, K.E. OLIVIER, J.. COOK and F. GORIN. Diagnosis and treatment of disease caused by the nontuberculous mycobacteria. Am J. Crit. Care Med. 156 (1997), S 1–S 25.

Fortlaufende Berichte zum Stand der Tuberkulose erschienen bei: Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose

4.23 Die Aktinomyzeten

KLAUS PETER SCHAAL

4.23.1 Allgemeine Eigenschaften

Nach traditioneller Definition sind Aktinomyzeten („Strahlenpilze“) *gram-positive Fadenbakterien*, die dazu neigen, in verzweigten Geflechten zu wachsen. Ihre Ähnlichkeit mit echten, zum Reich der Eukaryonten (*Eucarya*) gehörenden Pilzen, der sie ihren mehr als einhundert Jahre alten (HARZ, 1877) Namen verdanken (griech. aktis: Strahl; griech. mykes: Pilz), ist nur oberflächlich und beschränkt sich auf eben dieses myzeliale Wachstumsverhalten sowie auf die Fähigkeit vieler Arten, sich mit Hilfe von Dispersionssporen (Fragmentations-, Arthro-, Sporangiosporen, Konidien) zu vermehren und zu verbreiten. Alle übrigen grundlegenden biologischen Eigenschaften weisen die Aktinomyzeten eindeutig als Angehörige des Bakterienreiches *(Eu)Bacteria* und damit als *Prokaryonten* aus.

Systematische Stellung

Frühere Systematik: Die von BUCHANAN (1917) geschaffene Ordnung *Actinomycetales*, eine vornehmlich morphologisch charakterisierte und außerordentlich formen- und artenreiche Bakteriengruppe, blieb bzgl. Taxonomie lange Zeit unzureichend charakterisiert. In den vergangenen 20 Jahren schufen die Entwicklung von Chemotaxonomie und molekularbiologischen Techniken (DNA-DNA-Hybridisierung und 16S- und 23S-rRNA/rDNA-Sequenzierung) die Voraussetzungen für eine grundlegende Revision der Aktinomyzetentaxonomie und für eine phylogenetisch ausgerichtete Systematik aller Prokaryonten.

Neue Einteilung: Inzwischen liegt ein Vorschlag für ein neues, umfassendes, hierarchisches Klassifizierungssystem der Aktinomyzeten vor (STACKEBRANDT et al., 1997), das sich allein auf molekularbiologische Eigenschaften stützt. Dieses System vereint alle grampositiven Bakterien mit hohem GC-Gehalt ihrer DNA (> 50mol%) in der Klasse *Actinobacteria*, die ihrerseits in fünf Unterklassen unterteilt wird, von denen nur die Unterklasse *Actinobacteridae* mit den Ordnungen *Actinomycetales* und *Bifidobacteriales* humanmedizinisches Interesse beansprucht (Tab. 4.53).

Weitere typische menschliche Krankheitserreger aus der Klasse *Actinobacteria*, wie zum Beispiel Mitglieder der Familien *Corynebacteriaceae* oder *Mycobacteriaceae*, gehören nicht zu den Aktinomyzeten im engeren Sinne. Demgegenüber gehört die Gattung *Thermoactinomyces* trotz ihrer eindeutigen Aktinomyzetenmorphologie aufgrund ihres niedrigen GC-Gehaltes der DNA, ihrer Endosporenbildung und ihrer 16S-rDNA-Sequenz zur Familie *Bacillaceae*, wird aber dennoch aus historischen und medizinischen Gründen in diesem Kapitel besprochen.

Einteilung nach ökologischen und medizinischen Gesichtspunkten

Ungeachtet aller aktuellen taxonomischen Wandlungen können die pathogenen Aktinomyzeten weiterhin in herkömmlicher Weise anhand ökologischer und physiologischer Unterschiede in zwei Gruppen unterteilt werden, die sich aus medizinischer Sicht deutlich voneinander unterscheiden.

- Die kleinere dieser Gruppen besteht aus Fadenbakterien mit **fermentativem Kohlenhydrat-Metabolismus**, die ihren natürlichen Standort überwiegend auf den Schleimhautoberflächen warmblütiger Wirtsorganismen haben.
- Die Angehörigen der zweiten, weitaus größeren Aktinomyzetengruppe sind **obligate Aerobier** und leben primär überwiegend in der freien Natur, vor allem im Erdboden, wo sie als zahlenmäßig und funktionell wichtiger Bestandteil der ortsansässigen Mikroflora an der Remineralisierung toter organischer Substanzen mitwirken.

Nur jeweils einzelne Arten aus mehreren Gattungen beider Untergruppen besitzen direkte oder indirekte **medizinische Bedeutung**, teils als **Krankheitserreger** von Mensch und Tier (z.B. *Actinomyces, Nocardia, Actinomadura, Dermatophilus*), teils als **biologische Allergene** (z.B. *Saccharopolyspora, Saccharomonospora*), teils auch als **Produzenten verschiedener Antibiotika** (z.B. *Streptomyces, Micromonospora*).

Tab. 4.53 Klasse *Actinobacteria*: Familien mit humanmedizinischer Bedeutung, die der morphologisch geprägten Sammelbezeichnung „Aktinomyzeten" entsprechen

Unterklasse	Ordnung	Unterordnung	Familie
Actinobacteridae	*Actinomycetales*	*Actinomycinae*	*Actinomycetaceae*
		Micrococcineae	*Micrococcaceae* *Cellulomonadaceae* *Dermatophilaceae*
		Corynebacterineae	*Gordoniaceae* *Nocardiaceae* *Tsukamurellaceae*
		Propionibacterineae	*Propionibacteriaceae*
		Pseudonocardineae	*Pseudonocardiaceae*
		Streptomycineae	*Streptomycetaceae*
		Streptosporangineae	*Nocardiopsaceae* *Thermomonosporaceae*
	Bifidobacteriales		*Bifidobacteriaceae**

* Familie enthält wenigstens eine Spezies mit analogen Merkmalen

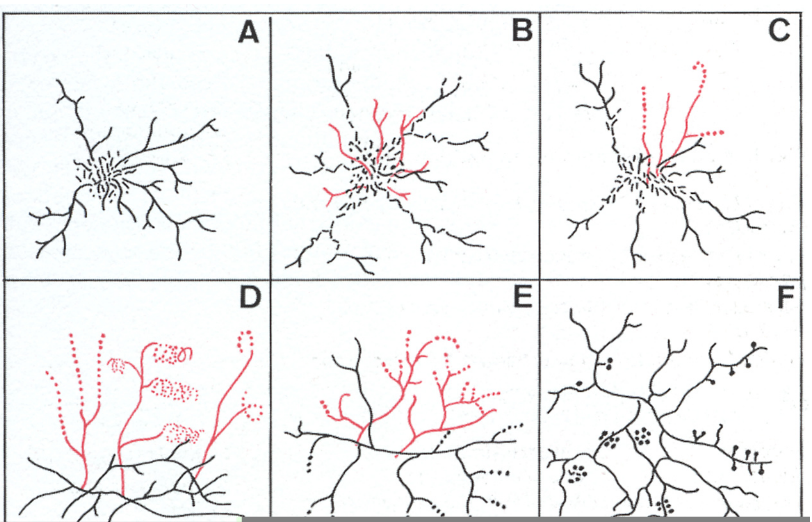
Aktinomyzeten mit fermentativem Kohlenhydrat-Stoffwechsel (Tab. 4.54) sind *morphologisch wenig differenzierte Fadenbakterien* (Abb. 4.62 A). Sie bilden keine typischen Dispersionssporen und in der Regel auch kein Luftmyzel. Ihr Substratmyzel ist häufig nur in frühen Kulturstadien gut entwickelt und zerfällt bei weiterer Bebrütung in stäbchenförmige, selten kokkoide Fragmente; bei einigen Arten bleiben die Geflechte sogar in allen Wachstumsphasen rudimentär oder fehlen völlig.

Die fermentativen Aktinomyzeten weisen nicht nur hinsichtlich ihrer Morphologie und ihres Kohlenhydratstoffwechsels, sondern auch hinsichtlich ihrer Ökologie, Pathogenität und Epidemiologie beachtliche Ähnlichkeiten untereinander auf. So sind die meisten Arten obligatorisch an eine **epiphytäre oder parasitäre Lebensweise** auf den inneren und/oder äußeren Körperoberflächen von Mensch oder Tier angepaßt, hauptsächlich in der Mund(Maul)höhle und im Magen-Darm-Kanal, aber auch im weiblichen

Tab. 4.54 Einteilung der humanmedizinisch bedeutsamen Aktinomyzeten nach ökologischen und medizinischen Gesichtspunkten

Familie	Gattung/ Spezies	Bemerkungen	typische Erkrankungen
fermentative Aktinomyzeten			
Actinomycetaceae	*Actinomyces*	natürliches Vorkommen auf den Schleimhäuten warmblütiger Wirtsorganismen; Infektionsentstehung ausschließlich endogen	▩ Aktinomykosen (4.23.2) ▩ Entzündungen der Tränenkanälchen (Canaliculitis lacrimalis) (4.23.3) ▩ Karies und Parodontitis (4.23.4) ▩ uncharakteristische Haut- und Schleimhautentzündungen (4.23.5)
	Arcanobacterium	Infektionsentstehung bevorzugt exogen; epidemische Verbreitung bei Tieren	
	Mobiluncus	sichelförmig, begeißelt, „gramlabil"; daher äußerlich eher den gebogenen, gramnegativen Gattungen *Selenomonas* und *Wolinella* nahestehend	
traditionell werden außerdem zu den fermentativen Aktinomyzeten gerechnet:			
	Corynebacterium matruchotii	früher: *Bacterionema matruchotii*	
	Propionibacterium propionicum	früher: *Arachnia propionica*	
	Bifidobacterium	früher: *Actinomyces eriksonii*	

4



fektionssyndrom. Daher ist es sprachlich und sachlich richtiger, nicht von *der* Aktinomykose, sondern von *den* Aktinomykosen im Plural zu sprechen.

Klinisch lassen sich die Aktinomykosen als subakut bis chronisch verlaufende, granulomatös-eitrige Entzündungen charakterisieren, die zu langsamer Ausbreitung, multipler Abszedierung und Fistelbildung neigen. Ätiologisch stellen sie eine Gruppe nahe verwandter Infektionskrankheiten dar, die alternativ von verschiedenen fermentativen Aktinomyzeten, insbesondere der Gattungen *Actinomyces* und *Propionibacterium*, hervorgerufen werden können.

Geschichte

Der Tierarzt Otto Bollinger entdeckte im Jahre 1877, daß eine bis dahin als „Sarkom" angesprochene chronisch destruierende Kiefer- und Zungenerkrankung des Rindes („Knochenwurm", „Holzzunge") durch einen fädigen, pilzartigen Mikroorganismus verursacht wird, dem der Botaniker C. O. Harz (1877) den Namen *Actinomyces bovis* gab. Die Krankheit wurde daraufhin schon von Bollinger mit der ätiologischen Bezeichnung „Actinomykose" belegt. Die erste genaue Beschreibung ähnlicher Infektionen beim Menschen lieferte 1878 der Berliner Chirurg James Israel. Es dauerte allerdings noch mehr als 10 Jahre, bis es gelang, den wichtigsten humanpathogenen Erreger, *Actinomyces israelii*, zu züchten (Bujwid, 1889) und bakteriologisch zu charakterisieren (Wolff und Israel, 1891); und es dauerte weitere Jahrzehnte, bis allgemein anerkannt war, daß die Erreger boviner und menschlicher Aktinomykosen nicht identisch sind, sondern daß *A. bovis* ausschließlich im Tierreich vorkommt.

Erreger der Aktinomykosen

Mit Abstand die häufigsten und am besten gesicherten Erreger der menschlichen Aktinomykosen sind *Actinomyces israelii* (≧ 50 % der Fälle) und *A. gerencseriae* (≦ 25 % der Fälle; früher: Sero- und Biovarietät 2 von *A. israelii*). Weniger häufig werden *Actinomyces naeslundii*, *A. viscosus* und *Propionibacterium propionicum* gefunden.

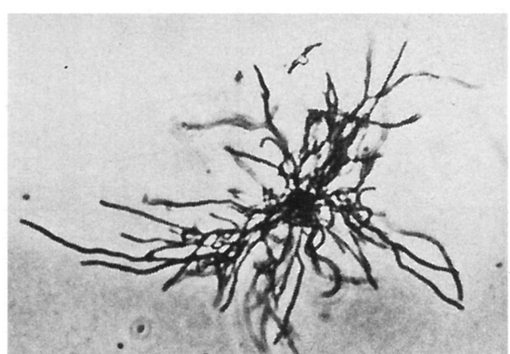
Weitere fermentative Aktinomyzeten (*Actinomyces meyeri, A. georgiae, A. neuii, Bifidobacterium dentium, Corynebacterium matruchotii* und *Rothia dentocariosa*), die gelegentlich aus menschlichem Untersuchungsmaterial isoliert-

Eigenschaften der Erreger

Mikroskopisches Erscheinungsbild. Die zelluläre Morphologie menschlicher Aktinomykoseerreger ist durch eine auffällige *Pleomorphie* geprägt. Im Gewebe und in frühen Kulturstadien bilden sie *gram-positive, gewellte Fäden* von bis zu 1 µm Dicke, die echte Verzweigungen aufweisen können. Eiterausstriche und Präparate älterer Kulturen zeigen dagegen häufiger kürzere oder längere, zum Teil kolbig verdickte oder gekörnte *Stäbchen*, die sich zu Y- oder V-Formen gabeln können („diphtheroide" Stäbchen). Alle fermentativen Aktinomyzeten sind *nicht* säurefest.

Kultur. Für ihre Vermehrung bevorzugen die klassischen pathogenen Arten eine merkliche Senkung der atmosphärischen Sauerstoffspannung und eine erhöhte Kohlendioxid-Konzentration. Sie sind aber keine strengen Anaerobier, sondern fakultativ anaerob-carboxyphile (kapnophile) Bakterien mit einer erheblichen inter- und intraspezifischen Variationsbreite hinsichtlich der Sauerstofftoleranz. Letztere ist bei den kürzlich neu beschriebenen Arten besonders ausgeprägt.

Koloniemorphologie. Charakteristische **myzeliale** („spinnenförmige") Kolonien (Abb. 4.63) werden nur von einigen Arten und oft nur in den ersten Bebrütungstagen ausgebildet. Wegen der vergleichsweise geringen Vermehrungsgeschwindigkeit sind diese diagnostisch wichtigen Strukturen jedoch nur mikroskopisch sicher aufzufinden. Bei weiterer Inkubation setzt zentrifugal fortschreitend und unterschiedlich stark ein



Tab. 4.55 Begleitflora von zervikofazialen Aktinomykosen

aerob wachsende Mikroorganismen	Anaerobier und Kapnophile
häufig (in mehr als 20% der Fälle)	
koagulasenegative Staphylokokken	schwarz pigmentierte *Bacteroidaceae*
	Fusobacterium spp.
	mikroaerophile Streptokokken
	Propionibacterium spp.
	Actinobacillus actinomycetemcomitans
gelegentlich (6–20% der Fälle)	
vergrünende Streptokokken	*Leptotrichia buccalis*
Staphylococcus aureus	*Peptostreptococcus* spp.
	nicht pigmentierte *Bacteroides/Prevotella* spp.
	Eikenella corrodens
selten (bis zu 5% der Fälle)	
β-hämolysierende Streptokokken	*Lactobacillus* spp.
Enterobakteriazeen	*Capnocytophaga* spp.
Streptococcus pneumoniae	*Campylobacter/Selenomonas* spp.
Enterokokken	*Bifidobacterium* spp.
Corynebacterium spp.	
Haemophilus spp.	
gram-negative Nonfermenter	
Sproßpilze	

kleiner, *in vivo* gebildeter, myzelialer Aktinomyzetenkolonien bestehen, die von einem Leukozytenwall umgeben sind. Die stacheligen Myzelfäden, die radiär aus den Kolonien herausragen, sind besonders im Gewebe, weniger im Eiter, an den Enden durch Anlagerung eines hyalinen Materials kolbig verdickt.

Klinik, Verlauf und Prognose

Entsprechend ihrem endogenen Infektionsweg entwickeln sich aktinomykotische Eiterungen primär bevorzugt in *schleimhautnahen Geweben*, von wo aus sie allerdings im weiteren Verlauf der Erkrankung *per continuitatem* oder *hämatogen* auch entfernter gelegene Organe erreichen können. Wie bei anderen endogenen Infektionskrankheiten ist die **Inkubationszeit** nicht genormt; sie soll in der Regel vier Wochen betragen, kann aber auch erheblich länger oder deutlich kürzer sein.

Zervikofaziale Aktinomykosen. *Sitz der Primärläsion* ist in der weit überwiegenden Mehrzahl der Fälle, wenigstens in Deutschland, der Gesichtsschädel, die *Zervikofazialregion*. Zahnextraktionen, Kieferbrüche, periodontale Abszesse, in die Schleimhaut eingedrungene Fremdkörper oder vereiterte Tonsillenkrypten sind meist die auslösenden Ursachen der Infektion. Diese beginnt entweder akut als – in der Regel odontogener – Abszeß oder Mundbodenphlegmone oder primär chronisch als derbe, ziemlich unempfindliche, rötlich-livide verfärbte Schwellung.

Frühabszesse können noch nach bloßer chirurgischer Ausräumung abortiv ausheilen; häufiger geht das akute Initialstadium aber ohne spezifische Behandlung in einen subakuten bis chronischen Verlauf über und gleicht sich damit immer mehr der *primär* **chronischen Form** an, die bei längerem Bestehen durch eine zunehmend typischere Symptomatik gekennzeichnet ist: Rückbildung und Vernarbung zentraler Eiterherde bei peripher fortschreitenden *harten Infiltraten*

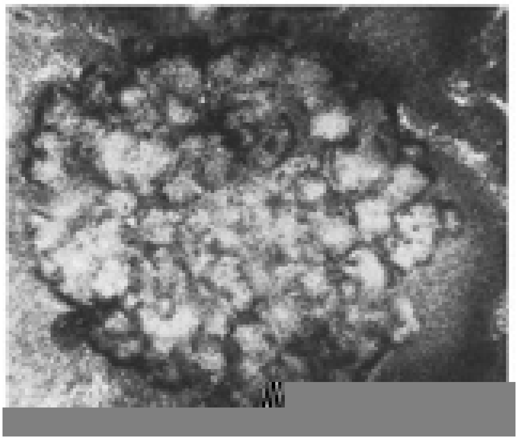


Abb. 4.64 *Actinomyces*-Druse: Nativpräparat in 1%iger Methylenblau-Lösung, Vergrößerung 120× (Foto: F. LENTZE).

mit neuen, *multiplen Einschmelzungen*; Aufbrechen von *Fisteln*, aus denen sich oft drusenhaltiger Eiter entleert; Bildung eines *vielkammerigen Höhlensystems* mit schlechter Heilungstendenz und einer ausgesprochenen *Rezidivneigung* nach vorübergehendem Rückgang der Entzündungszeichen. Im Gegensatz zur bovinen Aktinomykose ist *Knochenbefall* beim Menschen die Ausnahme.

Nicht oder unzureichend behandelt breiten sich die Aktinomykosen über Organgrenzen hinweg immer weiter aus und können durch Einbruch ins Schädelinnere oder in die Blutbahn akut lebensbedrohlich werden. Selten kommt es zu hämatogenen Fernmetastasen in die Haut, die Muskulatur, die Organe des Bauch- und Retroperitonealraumes sowie vor allem in das Zentralnervensystem (systemische oder generalisierende Aktinomykose).

Thorakale Aktinomykosen. Viel seltener als die zervikofazialen Manifestationsformen werden thorakale Aktinomykosen beobachtet. Diese entwickeln sich vornehmlich nach Aspiration erregerhaltigen Materials aus der Mundhöhle, manchmal auch fortgeleitet vom Halsbereich aus oder hämatogen. Ein primärer Befall der Lunge führt zu bronchopneumonischen Infiltraten, die im Röntgenbild mit verstreuten, fleckigen Verschattungen eine Lungentuberkulose oder ein Bronchialkarzinom imitieren können. Unerkannt und unbehandelt schreitet die Erkrankung auch hier *per continuitatem* fort, bricht in den Pleuraspalt (Empyem), zum Herzbeutel oder zur Brustwand durch oder erscheint sogar als paravertebral abgestiegener Senkungsabszeß in der Leistenbeuge.

Abdominale Aktinomykosen. Die ebenfalls seltenen Aktinomykosen des Bauchraumes gehen von Verletzungen (Fischgräten, Knochensplittern) oder Entzündungen (Appendizitis) der Darmschleimhaut oder vom weiblichen Genitale aus. Uterus oder Vagina haben erst in jüngster Zeit vermehrte Beachtung als Ausgangspunkt aktinomykotischer Infektionen gefunden. Es zeigte sich, daß Frauen, die über einige Zeit Intrauterin- oder Vaginalpessare tragen, häufig (in 15–20%) eine auffällige Aktinomyzetenbesiedlung des inneren Genitale aufweisen, die an sich schon Entzündungserscheinungen (Fluor, Schmerzen, Fieber) auslösen kann und gelegentlich in einen invasiven aktinomykotischen Infektionsprozeß übergeht.

Klinisch imponieren die abdominalen Aktinomykosen als langsam größer werdende, tumoröse Prozesse, die leicht als Malignome dieser Körperregion (Rektum-, Zervixkarzinom) verkannt werden, solange nicht nach außen durchbrechende Fistelgänge mit Absonderung drusenhaltigen Eiters einen diagnostischen Hinweis geben. In manchen Fällen bringt auch die Punktion eines metastatisch entstandenen, aktinomykotischen Leberabszesses die Möglichkeit zum Erregernachweis.

Aktinomykosen der Haut. Primäre Aktinomykosen der Haut sind Raritäten und gehen gewöhnlich auf eine Kontamination von Wunden mit Mundspeichel (Zahnbelag) nach Menschenbiß oder Faustschlägen ins Gesicht zurück; ihre Symptomatik entspricht prinzipiell der der zervikofazialen Form.

Prognose. Die Prognose der zervikofazialen und kutanen Aktinomykosen kann heute bei rechtzeitiger Diagnosestellung und gezielter Behandlung als gut bezeichnet werden. Die thorakalen, abdominalen und systemischen Manifestationen bleiben dagegen ebenso wie die unbehandelten Kieferaktinomykosen mit einem hohen Risiko für Gesundheit und Leben der Patienten belastet.

Laboratoriumsdiagnose

Wegen der vor allem im Beginn vieldeutigen klinischen Symptomatik und erheblicher Fehlermöglichkeiten bei der histologischen Beurteilung ist die Diagnose der Aktinomykosen letztlich nur ätiologisch, durch Nachweis und Identifizierung der Erreger im bakteriologischen Laboratorium, zu stellen. Immerhin können aber chronischer Verlauf, Fistelbildung, Rezidivneigung und körniger Eiter, der manchmal wie Grießsuppe aussieht, so auffällige Verdachtsmomente darstellen, daß eine *gezielte* bakteriologische Untersuchung veranlaßt werden sollte.

Erregernachweis. Als *Untersuchungsmaterial* für die bakteriologische Diagnostik eignen sich Eiter, Fistelsekret, Bronchialsekret oder Granulationsgewebe. Bei der Entnahme ist zu beachten, daß die Probe nicht mit der artengleichen

Schleimhautoberflächenflora, insbesondere der Mundhöhle, kontaminiert wird (Außenpunktion oder -inzision, transtracheale Sekretaspiration, transthorakale Lungenpunktion, perkutane Nadelbiopsie). Der Transport der Probe muß schnellstens (Bote) oder unter Verwendung eines reduzierenden Transportmediums erfolgen.

Eine rasche **mikroskopische Verdachtsdiagnose** ist bei Anwesenheit von Drusen möglich: Verdächtige Partikel bringt man auf einen Objektträger mit einem Tropfen 1%iger Methylenblau-Lösung und betrachtet sie unter leicht angedrücktem Deckglas bei schwacher mikroskopischer Vergrößerung (Abb. 4.64). Anschließend wird durch ein gram-gefärbtes Quetschpräparat abgesichert, ob typische fädige, gram-positive Strukturen (s.o.) vorhanden sind, deren Artzugehörigkeit gegebenenfalls mit Hilfe der Immunfluoreszenztechnik unmittelbar feststellbar ist.

Ein vorläufiges Ergebnis der **diagnostischen Kultur** ist in dafür eingerichteten Laboratorien nach 2–14 Tagen durch mikroskopischen Nachweis der myzelialen Kolonien zu erwarten. Reinisolierung und endgültige Identifizierung angewachsener Aktinomyzeten, die zur Abgrenzung kontaminierender apathogener Arten erforderlich sind, können weitere ein bis zwei Wochen in Anspruch nehmen.

Die häufig immer noch problematische **Kultur** gelingt bei 35–37°C auf komplexen organischen Nährböden (Hirn-Herz-Dextrose-Agar, SCHAEDLER-Agar, „Strahlenpilz-Agar" nach HEINRICH und KORTH) in semianaerobem Milieu oder in reduzierenden Flüssigmedien (TAROZZI-Bouillon und Thioglykolat-Bouillon mit Zusatz von sterilem Kaninchenserum).

Identifizierung. Die Artbestimmung unbekannter Aktinomyzeten mit fermentativem Stoffwechseltyp kann sich nur sehr bedingt auf morphologische Unterscheidungsmerkmale stützen. Unter Routinebedingungen gelingt sie am schnellsten mittels *direkter oder indirekter Immunfluoreszenzverfahren*, da wenigstens die klassischen Arten über speziesspezifische Oberflächenantigene verfügen. Zuverlässigere Ergebnisse, auch bei den neu beschriebenen Arten, erhält man allerdings durch Kombination chemotaxonomischer Untersuchungsverfahren („Zellwandanalyse") und der gaschromatographischen Bestimmung der Stoffwechselendprodukte mit der Prüfung verschiedener physiologischer Leistungen. Die Identifizierung einzelner Spezies mit spezifischen DNA-Sonden ist prinzipiell möglich; 16S rDNA/rRNA-Sequenzanalysen sind dagegen für Identifizierungszwecke unter Routinebedingungen weniger geeignet, da sie nicht nur teuer sind, sondern da einige Arten auch nur geringfügige Unterschiede im 16S rRNA-Gen aufweisen.

Der Einsatz molekularbiologischer Techniken (z.B. PCR mit für Aktinomyzeten-spezifischen Primern) führt leider zu keiner nennenswerten Verbesserung oder Beschleunigung der Diagnostik, da Nachweis und Differenzierung der komplexen Begleitflora, die aus Kostengründen weiterhin kulturell erfolgen muß, für eine abschließende diagnostische Aussage und für die optimale Chemotherapie unerläßlich sind.

Antikörpernachweis im Patientenserum, Hauttests oder Tierversuche haben für die Diagnosestellung bisher keine nennenswerte Bedeutung erlangt (aber s.u. „Herdreaktion"), obwohl durchaus Verfahren existieren und auch routinemäßig eingesetzt werden, mit deren Hilfe vorhandene Antikörper beim Patienten qualitativ und quantitativ bestimmbar sind.

Therapie

Die Behandlung der menschlichen Aktinomykosen stützt sich auf eine Kombination chirurgischer und chemotherapeutischer Maßnahmen. Bloße Inzision der aktinomykotischen Abszesse mit Eiterableitung und selbst ausgedehntere Exstirpationen des entzündeten Gewebes können den aktinomykotischen Infektionsprozeß meist nicht endgültig zur Ausheilung bringen. Solche **chirurgischen Maßnahmen** haben aber weiterhin ihren Platz als Ergänzung der Chemotherapie und können die Genesung beschleunigen und die Gefahr von Rezidiven verringern helfen. Entscheidend für einen raschen, komplikationslosen und rezidivfreien Heilverlauf ist jedoch in erster Linie der Einsatz geeigneter **antibakterieller Pharmaka**. Die Auswahl dieser Medikamente hat sich nicht nur nach den Aktinomyzeten als Leitkeimen, sondern auch nach allen vorhandenen Begleitbakterien zu richten, wenn Therapieversager und Rezidive vermieden werden sollen. Mittel der Wahl sind die **Aminopenicilline in Kombination mit Clavulansäure** oder **Sulbactam**, auf die praktisch das gesamte aktinomykotische Mischkollektiv immer gut anspricht.

Bei thorakalen und abdominalen Aktinomykosen kann in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Begleitflora die Verwendung weiterer Kombinationspartner (z.B. Metronidazol, Clindamycin, Aminoglykoside) erforderlich sein, auch der Einsatz anderer β-Laktamantibiotika (z.B. Imipenem) kann gelegentlich

sinnvoll sein. Zu beachten ist, daß weder Clindamycin noch Metronidazol als Monotherapeutika eingesetzt werden dürfen, da Clindamycin gegenüber *Actinobacillus actinomycetemcomitans* und Metronidazol gegenüber den pathogenen Aktinomyzeten relative bis vollständige Wirkungslücken aufweisen. Bei Penicillin-Allergie können, wenn keine Kreuzallergie vorliegt, Cephalosporine anstelle von Aminopenicillinen verwendet werden. Sonst können Kombinationen mit Tetrazyklinen als Ersatz für die β-Laktamantibiotika dienen. Noch aus der vorantibiotischen Ära stammt die polyvalente *Heterovakzine* nach LENTZE. Diese hat nicht nur einen guten eigenen therapeutischen Effekt; durch die in den ersten Tagen der Behandlung auftretende *Herdreaktion* verbessert sie auch die Anflutung gleichzeitig verabreichter Chemotherapeutika, so daß selbst in schlecht durchblutetem Narbengewebe liegende Erreger erreichbar werden. Außerdem erlaubt die hohe Spezifität dieser Herdreaktion eine Absicherung der Diagnose auf immunologischem Wege. Die zuverlässige Wirkung der Antibiotika-Therapie hat heute die praktische Bedeutung der Heterovakzine völlig in den Hintergrund treten lassen.

Epidemiologie

Als endogene Infektionskrankheiten sind die Aktinomykosen nicht übertragbar und kaum einer Impf- oder Expositionsprophylaxe zugänglich. Sporadisch treten sie weltweit auf. Ihre Morbidität in den alten Bundesländern wurde bisher mit 1:40 000–80 000 pro Jahr angegeben. In jüngster Zeit scheint sich aber ein Rückgang der Aktinomykosemorbidität abzuzeichnen, dessen Ursache(n) und Ausmaß noch der genauen Analyse bedürfen.
Die auffällige Geschlechtsdisposition (Männer:Frauen wie 2,5:1), die wenigstens bei den zervikofazialen Erkrankungsformen erkennbar ist und die sich ausschließlich auf die Periode der Geschlechtsreife bezieht, könnte auf hormonelle Einflüsse bei der Entstehung der Infektion hinweisen. Der Altersgipfel liegt bei Männern zwischen dem zwanzigsten und vierzigsten Lebensjahr, bei Frauen im zweiten und dritten Lebensjahrzehnt. Vor der Pubertät, also auch im Säuglingsalter, und im Senium treten Aktinomykosen nur gelegentlich auf, und es fehlt die Bevorzugung des männlichen Geschlechtes.

4.23.3 Entzündungen der Tränenkanälchen – Canaliculitis lacrimalis

Als Canaliculitis lacrimalis bezeichnet man eine meist mild verlaufende, nicht invasive Infektion der Tränenkanälchen, die sich oft im Gefolge einer Konjunktivitis entwickelt und klinisch vor allem durch intermittierende Eiterabsonderungen im Augenwinkel auffällt. Durch Druck von außen oder mit der Kürette lassen sich aus den Kanälchen Konkremente entfernen, in denen FERDINAND COHN bereits 1875 fädige, verzweigte Mikroorganismen beobachtet hatte. Heute wissen wir, daß es sich dabei um fermentative Aktinomyzeten handelt, v.a. *Propionibacterium propionicum*, *Actinomyces viscosus* und *Actinomyces israelii*, zuweilen auch um *Actinomyces naeslundii, Actinomyces gerencseriae* oder *Actinomyces odontolyticus*, die einzeln oder zu zweit als Erreger der Erkrankung anzusprechen sind.
Eine **Begleitflora** wie bei den Aktinomykosen ist in der Regel ebenfalls vorhanden, aber meist weniger komplex zusammengesetzt. Bis auf den gelegentlichen Nachweis von *Streptococcus pneumoniae* oder *Haemophilus influenzae* weist sie gegenüber dem aktinomykotischen Mischkollektiv erstaunlich wenig organspezifische Besonderheiten auf. Entfernung der Konkremente und lokale Antibiotikagaben führen praktisch immer prompt zur Ausheilung.

4.23.4 Karies und Parodontitis

Aus gesundheitspolitischer und sozialer Sicht sind Karies und Parodontitis wahrscheinlich die wichtigsten krankhaften Veränderungen, an deren Genese fermentative Aktinomyzeten ätiologisch beteiligt sein können. In der langen und komplexen Kausalkette, an deren Ende die Manifestation beider Erkrankungsformen steht, stellen Mikroorganismen allerdings nur ein Glied dar, und Aktinomyzeten sind sicherlich nicht die einzigen und noch nicht einmal die bedeutendsten Bakterien, deren ursächliche Rolle heute diskutiert wird.
Actinomyces naeslundii, Actinomyces viscosus und *Rothia dentocariosa* verfügen wie die kariogenen Streptokokken über Haftmechanismen, mit deren Hilfe sie sich auf der glatten Zahnschmelzoberfläche festsetzen, mit anderen Bakterien verbinden und somit zur Plaque-Entstehung beitragen können. Für die Verkalkung der Plaque könnte *Corynebacterium (Bacterionema) matruchotii* mitverantwortlich sein, da diese Spezies intrazelluläre Ablagerungen von Kalziumsalzen bildet, die sich nicht von Knochen- oder Zahnapatit unterscheiden lassen.
Außerdem tragen Aktinomyzeten, insbesondere *Actinomyces viscosus*, zur Senkung des pH-Wertes im Bereich der Plaque und damit zur Demineralisation des Zahnschmelzes bei. Die anschließende Zerstörung des Dentins, aus der schließlich tiefe kariöse Kavitäten

resultieren, wird neben anderen Bakterien wahrscheinlich auch durch *Actinomyces odontolyticus* gefördert.
Einige Aktinomyzeten, vor allem *Actinomyces viscosus* und *Actinomyces naeslundii*, bilden darüber hinaus Stoffwechselprodukte, die das Schleimhautepithel irritieren und schließlich Entzündungsreaktionen hervorrufen können, die sich als Gingivitis oder Parodontitis manifestieren. Die parodontopathische Potenz der beiden letztgenannten Arten läßt sich auch unmittelbar im Tierversuch belegen.

4.23.5 Menschliche Erkrankungen durch weitere fermentative Aktinomyzeten

Arcanobacterium pyogenes ist seit langem als Erreger verschiedener eitriger Infektionsprozesse bei Haustieren bekannt; besonders charakteristisch sind die Euterentzündung (Mastitis) bei Kühen und die Peritonitis und Pleuritis bei Schweinen. Beim Menschen kann *A. pyogenes* eine akute Pharyngitis oder Urethritis oder kutane und subkutane Eiterungsprozesse hervorrufen.
Arcanobacterium haemolyticum kann zuweilen beim Menschen ebenfalls zu akuter Pharyngitis oder zu Hauteiterungen führen. *Rothia dentocariosa* und *Corynebacterium matruchotii* ebenso wie *Actinomyces europaeus, Actinomyces graevenitzii, Actinomyces neuii, Actinomyces radingae, Actinomyces turicensis, Arcanobacterium bernardiae* oder *Actinobaculum schaalii* wurden vereinzelt als Erreger verschiedener opportunistischer Infektionen, ausgedehnterer Abszesse und sogar akuter bis subakuter Endokarditiden oder Septikämien beschrieben.

4.23.6 Nocardiosen

Unter dem ätiologischen Begriff „Nocardiosen" werden akute oder chronische, zur Generalisation neigende Infektionskrankheiten geführt, die durch verschiedene Arten der Gattung *Nocardia* (nach dem französischen Tierarzt E. I. E. Nocard) hervorgerufen werden können. Die klassische humanpathogene Spezies *Nocardia asteroides* (Erstbeschreibung 1891 durch Eppinger) erwies sich inzwischen als taxonomisch so heterogen, daß ihre Aufteilung in mehrere Untergruppen erforderlich wurde. Vier dieser Untergruppen haben inzwischen den Status unabhängiger Spezies erhalten und werden heute unter den Bezeichnungen *Nocardia asteroides* (sensu stricto), *Nocardia farcinica, Nocardia nova* und *Nocardia abscessus* geführt. Alle vier Arten sind humanpathogen, unterscheiden sich aber in ihrer Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Pharmaka und in den jeweils hervorgerufenen Krankheitszuständen deutlich voneinander.

Weniger häufig werden menschliche Nocardiosen durch *Nocardia brasiliensis* (Erstbeschreibung 1909 durch Lindenberg), *Nocardia otitidiscaviarum* (Erstbeschreibung 1924 durch Snijders) oder *Nocardia pseudobrasiliensis* (Erstbeschreibung 1996 durch Ruimy et al.) hervorgerufen. Unter den weiteren, gegenwärtig anerkannten *Nocardia*-Arten, die schon aus menschlichem Untersuchungsmaterial isoliert wurden, besitzt nur noch *N. transvalensis* eindeutige humanmedizinische Bedeutung (s.u.), während die Krankheitserregerrolle von *N. paucivorans* noch zu klären bleibt.

Eigenschaften der Erreger

Mikroskopisches Erscheinungsbild. In gefärbten mikroskopischen Präparaten zeigen *Nocardia*-Arten eine ähnliche Pleomorphie wie die fermentativen Aktinomyzeten. Typisch sind gram-positive, unbekapselte und unbegeißelte, 0,5–1 µm dicke, teils verzweigte, schlanke Fäden und Stäbchen. Häufig wird das Bild aber auch, besonders in Kulturpräparaten, von kokkoiden Elementen beherrscht. Die Zellwand von Nocardien enthält 2,6-Diaminopimelinsäure als dibasische Aminosäure sowie die Zucker Arabinose und Galaktose (Zellwandtyp IV nach Lechevalier); in der äußeren Zellumhüllung finden sich verschiedene Lipide, u.a. Nocardomykolsäuren, die eine partielle Säurefestigkeit bedingen (bei stark verkürzter Entfärbung mit HCl-Alkohol oder besser mit 1%iger H_2SO_4).
Kulturbedingungen. Nocardien vermehren sich auf oder in fast allen gängigen Nährmedien, sofern Sauerstoffzutritt und neutrale bis leicht alkalische pH-Werte gewährleistet sind.
Bei einer optimalen Vermehrungstemperatur von 30–37 °C entwickeln sich auf den gebräuchlichen bakteriologischen Universalnährböden und auf Medien für die Tuberkulosediagnostik (z.B. Loewenstein-Jensen-Medium) in den ersten 2–4 Bebrütungstagen mehr oder weniger myzeliale Kolonien, die mit bloßem Auge sichtbar werden (Abb. 4.62 B). Die nach 1–2 Wochen ausgewachsenen Makrokolonien können wasserunlösliche, *gelbliche, orangefarbene oder rötliche Pigmente* enthalten; außerdem verfärben manche Stämme, insbesondere der Arten

N. asteroides und *N. brasiliensis*, peptonhaltige Nährmedien braun.
Kulturen auf Agarmedien sind meist mit einem mehr oder weniger dichten, samtigen Belag aus weißen oder gegebenenfalls zartrosa *Lufthyphen* überzogen und verbreiten einen charakteristischen, erdigen Geruch, der allerdings kein gattungsspezifisches Merkmal darstellt. In Peptonbouillon oder anderen flüssigen Nährmedien wachsen Nocardien primär zu einem bröckeligen oder lederartigen *Oberflächenhäutchen* ohne Trübung des Mediums aus.
Identifizierung. Wegen der großen mikroskopischen und kulturellen Ähnlichkeit, die verschiedene *Nocardia*-Arten untereinander und mit anderen aeroben Aktinomyzeten aufweisen, ist ihre Identifizierung nicht einfach. Eine vorläufige Einordnung verdächtiger Isolate ist mit Hilfe der sogenannten Hydrolyse-Tests (Abbau von Kasein, Tyrosin, Xanthin, Hypoxanthin, Adenin, Testosteron) und – mit noch geringerer Treffsicherheit – anhand des Antibiotika-Resistenzverhaltens möglich. Zuverlässige Differenzierungsergebnisse sind jedoch nur von einer Kombination aufwendigerer chemotaxonomischer (Analyse der Zellwandbausteine, Nachweis und Charakterisierung der Nocardomykolsäuren) und gegebenenfalls molekularbiologischer Verfahren mit auxanographischen Spezialmethoden zu erwarten. Die alleinige Bestimmung der 16S-rDNA/rRNA-Sequenzen reicht für eine exakte Artdiagnose häufig nicht aus, da einige Spezies, insbesondere *N. asteroides,* immer noch so heterogen sind, daß sich die ermittelten Sequenzen nicht zuverlässig zuordnen lassen.

Pathogenese und Pathologie

Der Atemtrakt und Hautwunden sind die beiden wichtigsten Eintrittspforten, über die pathogene Nocardien aus der Umwelt *exogen* in den menschlichen Körper gelangen. Allerdings scheinen sowohl die Inhalation als auch die traumatische Inokulation der in Staub oder Erde vorhandenen, reproduktiven *Nocardia*-Elemente nicht selten klinisch inapparent zu bleiben oder nur leichte, spontan abheilende Entzündungsreaktionen zu verursachen.
Prädisponierende Faktoren. 40–60 (–85)% der Nocardiose-Patienten leiden unter *prädisponierenden Grundkrankheiten* (Leukämien, Neoplasmen, Morbus CUSHING, chronische Lungenaffektionen) oder stehen unter immunsuppressiver (Transplantationspatienten) oder zytostatischer Therapie.
Nocardien, vor allem *Nocardia asteroides*, *N. farcinica* und *N. nova*, müssen demnach häufig als **opportunistische Krankheitserreger** gelten, die sich gegen ein intaktes Abwehrsystem nicht ohne weiteres durchsetzen können.
Für das Haften im Makroorganismus benötigen sie **keine synergistische Begleitflora** (Monoinfektion!); ihre Pathogenitätsmechanismen ähneln, wie eine ganze Reihe anderer biologischer Eigenschaften, denen der Tuberkelbakterien: Sie werden zwar durch Makrophagen aufgenommen, entgehen aber der intrazellulären Abtötung durch Superoxiddismutase und Katalase, vor allem aber durch Zellwandbestandteile wie den Cord-Faktor (Trehalose-6,6-Dimykolat) und andere Zellwandlipide, welche die Phagosom-Lysosom-Fusion verhindern. Dadurch kommt es sogar zur intrazellulären Vermehrung der pathogenen Nocardien, deren Ausmaß stammabhängig ist, d. h. durch Virulenzunterschiede geprägt wird. Wegen der insgesamt schwächeren Virulenz auch gegenüber Versuchstieren besitzt der diagnostische Tierversuch im Gegensatz zur Tuberkulose bei der Nocardiose keine praktische Bedeutung.
Pathologisch-anatomisch sind *Nocardia*-Infektionen überwiegend durch Abszedierungen mit zentralen Nekrosen gekennzeichnet, die meist wie andere pyogene Entzündungsprozesse strukturiert sind. Seltener finden sich diffus infiltrierende Erregerausbreitungen mit geringer zellulärer Reaktion oder die Bildung von Kavernen und Granulomen mit Riesenzellen, die eine Tuberkulose vortäuschen können.

Klinik, Verlauf und Prognose

Die menschlichen Nocardiosen werden traditionell unter klinischen, anatomischen und prognostischen Gesichtspunkten in *pulmonale, systemische* und *superfiziale Verlaufsformen* unterteilt (Tab. 4.56). Eine weitere, epidemiologisch eigenständige Erkrankungsform ist neuerdings die *nosokomiale, postoperative Nocardia-Wundinfektion*, die weit überwiegend durch *Nocardia farcinica* verursacht wird und zur lokalen oder systemischen Ausbreitung neigt. Allen diesen Manifestationen fehlt eine scharf umrissene klinische Symptomatik, aus der Rückschlüsse auf die individuelle ursächliche Erregerart abzuleiten wären.
Die **Inkubationszeit** schwankt zwischen wenigen

Tab. 4.56 Einteilung der Nocardiosen und Herkunft geeigneten Untersuchungsmaterials

Thorakale Nocardiosen	tiefe Atemwege, Bronchien Lungengewebe, Abszeßinhalt Pleuraempyem, -drainage
Systemische Nocardiosen	Hirn, Meningen Herzklappen, -beutel, Blut tiefe Weichteile Knochen, Gelenke
Superfiziale Nocardiosen	Haut, Subkutis Nebenhöhlen, Schleimhaut Augenbindehaut, Lider
***Nocardia*-Wund-infektionen**	postoperativ postraumatisch

Tagen und mehreren Wochen. Bei der *pulmonalen* und den meisten *systemischen Erkrankungen* siedeln sich die Erreger primär in der Lunge an. Zuweilen rufen sie hier eine fulminante, diffus

Abkehr von der jahrzehntelang propagierten Sulfonamid-Therapie hat hier entscheidende Verbesserungen gebracht (s.u.).

Superfiziale Nocardiosen manifestieren sich unter dem Bild einer uncharakteristischen, subakuten oder chronischen Affektion der Haut und/oder des Unterhautbindegewebes mit oder ohne Beteiligung des regionären lymphatischen Systems, oder sie imitieren als lymphokutanes Syndrom eine Pilzinfektion, die Sporotrichose (*sporotrichoide Nocardiose*). Außerdem können sie als einzelne, subkutane Abszesse oder als Augen- oder Lidentzündung in Erscheinung treten. Ihre Ausbreitungstendenzen sind geringer, und sie sind insgesamt *quoad vitam* und *quoad sanitatem* wesentlich gutartiger als die beiden anderen Nocardiose-Formen. Als Erreger des lymphokutanen Syndroms findet man meist *Nocardia brasiliensis; N. asteroides, N. nova, N. farcinica* und *N. otitidiscaviarum* rufen eher unspezifischere Krankheitserscheinungen hervor. *N.*

Nach der präkolumbianischen Theorie ist sie schon in den Zeiten vor Kolumbus aus Zentralafrika nach Europa gekommen. Sicher ist, daß – unabhängig von ihrem Ursprung – ab 1495 eine Syphilis-Epidemie in Europa herrschte, die sich 1498 nach Indien und 1505 nach China ausbreitete. Die Krankheit erhielt verschiedene Namen, z.B. Lues venereum, große Pocken, französische (italienische, spanische, deutsche, polnische) Seuche. Die heute gebräuchlichste Benennung Syphilis erhielt sie 1530 von FRACASTORO nach dem mythischen Schafhirten Syphilos, der wegen Gotteslästerung mit einer neuen Krankheit bestraft wurde. „Lues“ bedeutet eigentlich nur Seuche, die Bedeutung hat sich aber im Laufe der Zeit auf die Syphilis eingeengt. Zeitweise wurden Gonorrhoe (s. Kap. 4.3) und Syphilis für verschiedene Erscheinungsformen derselben Krankheit gehalten bis RICORD 1838 die Erkrankungen eindeutig trennte und zugleich auch die Stadieneinteilung der Syphilis vorschlug. 1905 entdeckten SCHAUDINN und HOFFMANN Spirochäten in den nach GIEMSA gefärbten Präparaten von Patienten im Se-

Mechanismen unbekannt sind. Proteine der äußeren Membran bewirken als Adhäsine die Anheftung der Treponemen an Körperzellen. Für die Fähigkeit, Epithelzellmonolayer und intakte Membranen zu durchdringen, werden spezielle Virulenzfaktoren gefordert, die jedoch bisher auch noch nicht bekannt sind.

Eintrittspforten der Treponemen sind kleine Hautläsionen und die intakten Schleimhäute. Aus Tierversuchen weiß man, daß der Erreger bereits nach wenigen Minuten in den Lymphknoten zu finden ist, wo er sich vermehrt und innerhalb weniger Stunden disseminiert. Histopathologisch findet man in allen Stadien der Erkrankung eine entzündliche Veränderung der Gefäße (Endarteriitis, Periarteriitis). Im Primärstadium tritt oft eine Epidermis-Hyperplasie auf, und im gummatösen Stadium findet man

dem Ulcus durum kommt es zur Schwellung der regionären Lymphknoten, in denen sich die Treponemen vermehren. Das Ulcus durum zusammen mit den geschwollenen Lymphknoten wird als **Primärkomplex** bezeichnet. Die Lymphknoten und das Ulcus an typischer Stelle sind nicht schmerzhaft, während die Ulzera im extragenitalen Bereich starke Schmerzen hervorrufen. Bereits in diesem ersten Stadium tritt auf dem Lymph- und Blutweg die Disseminierung ein. Die Symptome des Primärstadiums verschwinden von selbst nach einigen Wochen.

Symptome des **Sekundärstadiums** treten bei unbehandelten Fällen meistens ca. 8 Wochen nach dem Verschwinden des Primärkomplexes auf. Es kommt aber auch vor, daß das Primärstadium unmittelbar in das Sekundärstadium übergeht oder erst nach einem Jahr in Erscheinung tritt. Die Symptome des Sekundärstadiums sind vielgestaltig und uncharakteristisch, so daß die Erkrankung in diesem Stadium leicht übersehen werden kann. Manifestationsorte sind vor allem Haut und Schleimhäute. Über den ganzen Körper verteilt, auch an Handtellern und Fußsohlen, findet man ein roseolenartiges Exanthem sowie entzündliche Veränderungen im Mund-Rachenraum, die Angina specifica, und an den Schleimhäuten des Urogenitalsystems. An intertriginösen Arealen der Haut treten nässende Stellen auf, die Condylomata lata genannt werden. Häufig kommt es zu einem kleinfleckigen Haarausfall (Alopecia areata). Die allgemeinen Symptome sind ebenfalls uncharakteristisch und bestehen in Fieber, Kopfschmerzen, Meningismus, generalisierter Lymphadenopathie, Übelkeit, Erbrechen u.a. Darüber hinaus können im Sekundärstadium alle Organe, insbesondere die Augen, betroffen sein und die verschiedensten Symptome hervorrufen. Somit gehört die Lues-Diagnostik bei unklaren Fällen immer mit zum diagnostischen Programm.

Die Patienten sind im Primär- und Sekundärstadium hochinfektiös.

Bei einem Drittel der unbehandelten Patienten geht das sekundäre Stadium in das symptomlose und nicht infektiöse Latenzstadium – **Lues latens** – über, welches Jahrzehnte andauern kann. In diesem Stadium weisen nur die Laborreaktionen auf die Infektion hin.

Bei unbehandelten Patienten können bereits nach einem Jahr oder erst nach Jahrzehnten Symptome des **Tertiärstadiums** auftreten, welche die Haut und innere Organe betreffen. An der Haut findet man die sogenannten Syphilide, braunrote Hautknoten, die ulzerieren und narbig abheilen. Subkutan gelegene Knoten werden Gummata genannt. Sie stellen eine granulomatöse Gewebsreaktion dar und können als Spätmanifestation in allen Organen und in den Knochen auftreten. Die Symptome entsprechen ihrer Lokalisation. Am harten Gaumen führen sie zu dessen Perforation. Kardiovaskuläre und neurologische Symptome treten erst 10 bis 30 Jahre nach dem Primärstadium auf. Die kardiovaskuläre Hauptmanifestation ist die syphilitische Aortitis, die typischerweise die Aorta ascendens betrifft und im schlimmsten Fall zur Aneurysmabildung führt.

Veränderungen im Liquor findet man während des gesamten Verlaufs der Syphilis. Wenn es dann im dritten Stadium zu Symptomen von seiten des Zentralnervensystems kommt, wird das Krankheitsbild als **Neurosyphilis** – von manchen Autoren auch als viertes Stadium – bezeichnet. Die Progression der Erkrankung bis in dieses Stadium wird heute zwar bei HIV-Patienten, sonst aber selten beobachtet. Je nachdem, welcher Teil des ZNS am meisten befallen ist, treten Symptome der Paralyse (Demenz, Gedächtnisstörungen, Persönlichkeitsabbau etc.) oder eine Degeneration der Hinterstränge des Rückenmarks (Tabes dorsalis) auf, die u.a. durch Parästhesien, Ataxie und Hypo- bis Areflexie gekennzeichnet ist.

Kongenitale Syphilis – Lues connata

Wie bereits erwähnt, ist *Treponema pallidum* in der Lage, Membranen zu durchdringen. Diese Eigenschaft ermöglicht ab der zweiten Schwangerschaftshälfte die diaplazentare Erregerübertragung. Die Gefahr für eine Infektion des Feten steigt mit der Aktualität des infektiösen Prozesses der unbehandelten Frau. Sie beträgt bis zu 100%, wenn das Primärstadium der Erkrankung der Schwangeren in das zweite bis dritte Schwangerschaftsdrittel fällt. Es kommt zum Abort, zum intrauterinen Fruchttod, zur Totgeburt oder zu Schäden des Kindes, die bald nach der Geburt oder erst später in Erscheinung treten können. Früh auftretende Symptome sind eitrig-blutiger Schnupfen, Hepato-Splenomegalie, generalisierte Lymphadenopathie und nässende Hautstellen an Handflächen und Fußsohlen. Die Kinder mit diesen Symptomen sind hochinfektiös. Wenn die Erkrankung erst später manifest wird, treten oft drei Symptome zusammen auf, die als HUTCHINSON-Trias bezeichnet werden: interstitielle Keratitis, Innenohrschwerhörigkeit

und tonnenförmige Verformung der Zähne. Auch die Knochen – insbesondere Tibia und Nasenbein – können betroffen sein und Verformungen aufweisen. Da in Deutschland die Untersuchung der Schwangeren auf Syphilis obligater Bestandteil der Schwangerschaftsvorsorge ist, kommt die Lues connata bei uns nur noch sehr selten vor.

Laboratoriumsdiagnose

Die Diagnose „Syphilis" wird aufgrund des klinisch-anamnestischen Verdachtes, des direkten Erregernachweises im Dunkelfeldmikroskop, vor allem aber durch serologische Reaktionen gestellt. Moderne Verfahren wie z. B. die PCR sind für die Routinediagnostik noch nicht etabliert. Die kulturelle Anzüchtung der Treponemen ist nicht möglich. Der direkte Nachweis im Dunkelfeldmikroskop besitzt nur im Primärstadium eine begrenzte praktische Bedeutung und läßt keine Abgrenzung von *Treponema pallidum* gegen andere Treponemen zu. Somit sind die serologischen Verfahren – bestehend aus spezifischen und unspezifischen Reaktionen – auch heute noch unverzichtbar. Dabei ist zu bedenken, daß sie frühestens 2 bis 3 Wochen nach der Infektion positiv werden.

Für die spezifischen Tests wird *Treponema pallidum* mit Hilfe verschiedener Techniken als Antigen benutzt. In Deutschland wird als Suchre-

men. Da die Lipide auch auf menschlichen Zellen vorkommen, können die Antikörper auf andere Weise entstehen, d.h. es sind falsch-positive Reaktionen möglich. Sie kommen bei Patienten mit schweren Grundleiden, die zum Zellzerfall führen, sowie im Alter und in der Schwangerschaft häufiger vor. Die unspezifischen Tests werden quantitativ durchgeführt und dienen der Stellung der Therapieindikation und der Kontrolle des Therapieerfolgs. Die verwendeten Tests sind die **Mikroflockungsreaktionen VDRL** (*v*eneral *d*isease *r*esearch *l*aboratory test) und **RPR** (*r*apid *p*lasma *r*eagin card test) und die **Cardiolipin-Komplementbindungsreaktion**. In Deutschland wird vor allem der VDRL-Test verwendet. Bei positivem Ausfall der Lues-spezifischen Reaktionen und einem im VDRL-Test festgestellten Titer ist eine klare Therapieindikation gegeben. Bei Therapieerfolg sollte der VDRL-Titer innerhalb eines Jahres verschwinden. Schwierigkeiten der Diagnostik können bei Verdacht auf falsch-positive unspezifische Reaktion auftreten. Dann kann u.U. der Nachweis von Lues-spezifischem IgM mittels des **IgM-FTA-Tests** hilfreich sein. Der IgM-Nachweis ist auch in der Diagnostik der Lues connata erforderlich, denn IgG-Antikörper könnten von der Mutter auf das Kind übertragen worden sein. Besondere diagnostische Probleme treten bei Verdacht auf Neurosyphilis auf, denn mittels des FTA-Tests im Liquor nachge-

Erythromycin und Cephalosporine. Eine prophylaktische Partnerbehandlung wird heute allgemein empfohlen.
Den im folgenden gegebenen Therapieempfehlungen liegen keine kontrollierten Studien zugrunde, sie sind rein empirisch und richten sich nach dem Stadium der Erkrankung:
Primär-, Sekundär- und *frühes Latenzstadium* (< 1 Jahr): einmalige Gabe von 2,4 Mio IE Benzathin-Penicillin G i.m., Kinder 50 000 IE/kg; bei Penicillin-Allergie: 2 Wochen zweimal täglich 100 mg Doxycyclin p.o. oder viermal täglich 500 mg Tetrazyklin p.o. oder 2 Wochen 40 mg/kg/Tag Erythromycin oder für 8–10 Tage täglich 1 g Ceftriaxon;
spätes Latenzstadium (> 1 Jahr), *Tertiärstadium* (Gummata, kardiovaskuläre Symptome): dreimal 2,4 Mio IE (Kinder 150.000 IE/kg) Benzathin-Penicillin G i.m. in wöchentlichen Intervallen oder Doxycyclin bzw. Tetrazyklin wie oben jedoch für 4 Wochen.
Neurosyphilis: drei- bis viermal täglich 6 Mio IE Penicillin G i.v. für 10–14 Tage oder täglich 2,4 Mio IE Procain-Penicillin i.m. plus 1 g Probenecid p.o. für 10–14 Tage oder Doxycyclin bzw. Tetrazyklin wie oben für 4 Wochen.
Kongenitale Syphilis (Alter < 1 Monat): für 7 Tage zweimal täglich und dann noch 3 Tage dreimal täglich 50 000 IE/kg Penicillin G i.v oder 10 Tage einmal täglich 50 000 IE/kg Procain-Penicillin i.m.
Kongenitale Syphilis (Alter > 1 Monat): 10 Tage viermal täglich 50.000 IE/kg Penicillin G i.v.
Als besonderes Problem kann beim Beginn der Syphilis-Therapie aufgrund des Zerfalls der Treponemen die **JARISCH-HERXHEIMER-Reaktion** auftreten. Es kommt dabei innerhalb von 12 Stunden nach Therapiebeginn zur Exazerbation der lokalen und systemischen Symptome und zu Allgemeinreaktionen wie Fieber, Myalgien, Kopfschmerzen. Die Symptome klingen 24 Stunden später wieder ab. Die genauen Ursachen ihrer Entstehung sind nicht geklärt. Die Patienten müssen auf die Möglichkeit dieser Reaktion hingewiesen werden.
Obgleich *Treponema pallidum* nach wie vor für Penicillin sehr gut empfindlich ist, hängt der Therapieerfolg wesentlich von der Funktion des Immunsystems ab. Daher wird das sonst seltene Therapieversagen bei AIDS-Patienten häufiger beobachtet. Im fortgeschrittenen Krankheitsstadium, insbesondere bei der Neurolues, kann die Therapie nur die weitere Progression der Erkrankung verhindern, die bereits manifesten Schäden sind dann nicht mehr heilbar. In jedem Fall muß der Therapieerfolg mittels Titerbestimmung kontrolliert werden, was jedoch nur mit den unspezifischen Tests, z. B. dem VDRL-Test, möglich ist.

Epidemiologie und Prophylaxe

Treponema pallidum kommt nur beim Menschen vor und ist weltweit verbreitet. Obgleich genaue Zahlen für Deutschland nicht vorliegen, läßt sich doch sagen, daß die Inzidenz der Syphilis seit dem zweiten Weltkrieg – wie auch in anderen industrialisierten Ländern – kontinuierlich abgenommen hat. In den 80er Jahren betrug sie noch 10 Fälle pro 10^5 Einwohner pro Jahr und sank danach weiter ab. In den USA sind starke Schwankungen der Inzidenz zu verzeichnen, die Zahl der kongenitalen Syphilis-Fälle ist zur Zeit mit ca. 50 pro 10^5 Lebendgeburten sehr hoch. Dies wird auf den steigenden Gebrauch von Kokain sowie auf die schlechte Überwachung der Schwangeren in den USA zurückgeführt. Daß die Syphilis weltweit weiterhin ein Problem ist, zeigen die Zahlen der WHO für 1995 (neuere liegen derzeit nicht vor): Es wurden 12 Millionen neue Fälle bei Erwachsenen registriert, davon 5,8 Millionen in Süd- und Südostasien und 3,5 Millionen in Afrika südlich der Sahara. Entsprechend hoch sind die Fallzahlen der kongenitalen Syphilis in diesen Gebieten.
Für die Lues besteht in Deutschland eine anonyme **Meldepflicht,** die aber häufig nicht eingehalten wird, so daß von einer nicht abschätzbaren Dunkelziffer auszugehen ist.
Eine spezielle **Prophylaxe** im Sinne einer Impfung gegen Syphilis gibt es nicht. Somit kommt anderen Präventionsmöglichkeiten eine große Bedeutung zu. Dazu gehört die allgemeine Aufklärung junger Menschen über Geschlechtskrankheiten, die lückenlose Überwachung von Risikogruppen (Prostituierte, Drogenabhängige), die wiederholte Testung von Blutspendern, die Schwangerschaftsvorsorge und der Infektionsschutz aller Personen mit Patientenkontakt.

4.24.3 Andere Treponematosen

Endemische, nicht venerische Syphilis (Bejel, Njovera)

Die endemische Syphilis tritt geographisch begrenzt in Nordafrika, dem östlichen Mittelmeer-

raum und bestimmten Gebieten Asiens bei Menschen auf, die unter schlechten hygienischen Bedingungen leben. Besonders häufig sind Kinder betroffen. Der Erreger, *Treponema pallidum* subspecies *endemicum*, kommt nur beim Menschen vor, die Übertragung erfolgt durch direkten oder indirekten Kontakt (z.B. Geschirr). Eine diaplazentare Übertragung erfolgt nicht. Nach einer Inkubationszeit von 2 bis 12 Wochen erscheinen Symptome an der Haut und den Schleimhäuten: Runde makulo-papulöse trockene Läsionen am Stamm und an den Extremitäten, feuchte Papeln in den Hautfalten, Depigmentierung, Hyperpigmentierung, Hyperkeratosen, Flecken auf der Mundschleimhaut und Alopezie. Später können destruktive Veränderungen der Haut und der Knochen sowie des Nasopharynx dazu kommen. Kardiovaskuläre oder neurologische Symptome treten nicht auf.

vitam nicht bedrohlich, sie kann aber zu entstellenden Veränderungen führen. Die Diagnose wird aufgrund des klinischen Bildes, des Nachweises der Treponemen im Dunkelfeldmikroskop oder mittels der direkten Immunfluoreszenz sowie durch die serologischen Reaktionen gestellt. Therapie wie bei der Syphilis.

Pinta (Carate)

Die Erkrankung tritt in den feucht-heißen Gebieten Zentral- und Südamerikas bei der auf dem Lande unter unhygienischen Bedingungen lebenden Bevölkerung auf. Der Erreger, *Treponema carateum,* kommt nur beim Menschen vor. Er wird durch engen körperlichen Kontakt übertragen und führt nach einer Inkubationszeit von ca. 3 Wochen zu den ersten Symptomen die

Rolle sie in der Pathogenese der Erkrankung spielen, ist nicht bekannt. Mittel der Wahl bei Angina Plaut-Vincenti ist Penicillin.

4.24.4 Die Gattung Borrelia

Borrelien haben eine Länge von 5 bis 25 μm und sind mit einem Durchmesser von 0,2 bis 0,5 μm dicker als die Treponemen. Sie haben wenige breite, unregelmäßige Windungen. Als einzige Bakteriengattung besitzen sie ein lineares Chromosom. Auf ihren zirkulären und linearen Plasmiden liegen die Gene für Membranproteine, die variabel exprimiert werden. Im Gegensatz zu den Treponemen sind Borrelien auf künstlichen Medien anzüchtbar; sie haben eine Verdoppelungszeit von 18–20 Stunden. Für ihre Vermehrung benötigen sie langkettige Fettsäuren und mikroaerophile Wachstumsbedingungen. Die als Krankheitserreger bekannten Borrelien kommen in den gemäßigten und trockenen Klimazonen vor und werden durch Vektoren (Zecken, teilweise auch Kleiderläuse) übertragen.
Durch Borrelien werden zwei verschiedene Krankheitsbilder hervorgerufen und zwar durch *Borrelia burgdorferi, B. afzelii und B. garinii* die Lyme-Erkrankung und durch *Borrelia recurrentis, B. duttoni* und einige andere Arten die Rückfallfieber, die je nach Überträger Läuse- oder Zecken-Rückfallfieber genannt werden.

4.24.5 Lyme-Erkrankung

Geschichtliches

In den 70er Jahren wurde über eine Häufung von Gelenkerkrankungen bei Jugendlichen im USA-Bundesstaat Connecticut, vor allem in dem Ort Lyme, berichtet. Aufgrund der Häufigkeit des Auftretens schloß man die juvenile rheumatoide Arthritis aus und nannte die Erkrankung Lyme-Arthritis. Etwas später wurde der Zusammenhang verschiedener nach dem Biß durch die Haftzecke *Ixodes scapularis* auftretender Symptome erkannt und der Symptomkomplex bestehend aus wandernder Rötung, Nerven- und/ oder Herzerkrankung und Arthritis als Lyme disease bezeichnet (s.a. Abb. 1.3). In Europa war das klinische Bild der wandernden Röte nach dem Biß durch die Haftzecke *Ixodes ricinus* bereits 1909 von Afzelius und 1913 von Lipschütz als Erythema migrans bzw. Erythema chronicum migrans beschrieben worden; 1922 hatten Garin und Bujadoux über meningitische und neurologische Symptome nach Zeckenbiß berichtet und bereits ein infektiöses Agens vermutet. Bannwarth hatte 1941 die Erkrankung als chronisch-lymphatische Meningitis beschrieben und Veränderungen im Liquor der Patienten festgestellt. Der zunächst unbekannte Erreger wurde 1981 zufällig bei Forschungsarbeiten zu Rickettsien durch Burgdorfer auf Long Island entdeckt und bald darauf gelang Barbour in den Rocky Mountain Laboratories seine kulturelle Anzüchtung. 1984 wurde der Erreger von Johnson als eine neue Borrelienart beschrieben und *Borrelia burgdorferi* genannt. Die neue Spezies wurde zunächst für einheitlich gehalten, jedoch zeigte sich eine größere Heterogenität der europäischen Isolate. Dies führte dann zu Beginn der 90er Jahre zur Beschreibung der drei heute als Erreger der Lyme-Erkrankung bekannten Arten: *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (s.s.) und die unter dem Oberbegriff *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.) zusammengefaßten Spezies *Borrelia afzelii* und *Borrelia garinii.*

Eigenschaften

Im Aufbau der als Erreger der Lyme-Erkrankung bekannten Borrelien spielen Membran-assoziierte Lipoproteine eine besondere Rolle. Es sind die überwiegend Plasmid-kodierten „outer surface Proteine" OspA bis OspF. Im Hinblick auf die auch für die Diagnostik genutzte Immunität sind vor allem OspA und OspC wichtig. Die Expression dieser Proteine ist abhängig von der Umgebung der Borrelien: OspA wird exprimiert, wenn sich die Borrelien im Darm von Zecken befinden, die noch kein Blut gesaugt haben, während OspC erst nach Blutkontakt erscheint und wahrscheinlich das im Säugetierorganismus überwiegend exprimierte Protein ist. Dafür spricht, daß beim Säugetier Antikörper vor allem gegen OspC und nur selten gegen OspA gefunden werden. Unter dem Aspekt der Entwicklung eines Impfstoffes ist die Heterogenität der Membranproteine ein wichtiger Faktor. *Borrelia burgdorferi* s.s und *Borrelia afzelii* sind im OspA-Typ einheitlich, *Borrelia garinii* ist heterogen. OspC und wahrscheinlich auch die anderen Osp-Proteine sind bei allen Arten heterogen.

Pathogenese

Die Osp-Proteine sind auch an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt, insbesondere spielt OspA eine Rolle bei der Adhäsion der Borrelien an die Wirtszellen. Weitere Pathogenitätsfaktoren sind die Fähigkeit der Borrelien, sich auch in viskösen Flüssigkeiten zu bewegen, in die Basalmembran und die extrazelluläre Matrix einzudringen sowie ihre Serumresistenz und die durch die Variabilität ihrer Membranproteine bedingten „immune escape"-Mechanismen.

Klinik

Die Lyme-Erkrankung verläuft in drei Stadien, die jedoch nicht immer alle klinisch in Erscheinung treten und auch überlappend auftreten können.

Die somit nicht unbedingt gerechtfertigte Stadieneinteilung wird hier beibehalten, weil sie im klinischen Alltag üblich ist. In jedem Stadium kann eine spontane Ausheilung erfolgen. Am häufigsten erkranken Kinder an der Borreliose, in den USA sind ca. 23% der Erkrankten Kinder.
Stadium I: Frühestens einige Tage und bis vier Wochen nach dem Zeckenbiß kann das **Erythema migrans**, die wandernde Röte, erscheinen. Ausgehend von einem kleinen roten Fleck um die Bißstelle breitet sie sich innerhalb von Tagen bis Wochen zentrifugal aus, wobei die Mitte wieder blasser wird. Gleichzeitig kommt es zur hämatogenen Ausbreitung der Borrelien, was das mögliche Auftreten von Allgemeinsymptomen wie Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Müdigkeit, Myalgien, Arthralgien und evtl. sogar Nackensteife erklärt. Das häufigere Vorkommen dieser Allgemeinsymptome in den USA wird auf eine höhere Virulenz von *Borrelia burgdorferi* s.s. gegenüber den anderen Borrelienarten zurückgeführt. Das Erythema migrans ist ein typisches Symptom, aber es tritt nur bei ca. 40 bis 60% der Infizierten auf, so daß Patienten mit den Symptomen der späteren Stadien sich oft an einen Zeckenbiß gar nicht erinnern können. Ein selteneres Symptom des ersten Stadiums ist die **Lymphadenosis cutis beningna**, ein rötlich-livider Tumor am Ohrläppchen, an der Mamille oder am Skrotum. Die Symptome des ersten Stadiums verschwinden auch ohne Therapie nach 4–10 Wochen.
Stadium II: Wenn das erste Stadium nicht oder nicht suffizient behandelt wurde oder gar nicht in Erscheinung trat, können Wochen bis Monate später die Symptome des zweiten Stadiums auftreten. Sie äußern sich in besonders nachts auftretenden Nervenwurzelschmerzen in wechselnden Körperregionen (Polyradikulitis BANNWARTH), Nervenlähmungen, insbesondere bei Kindern Fazialisparese, Meningitis, Enzephalitis, ophthalmologischen Symptomen (Episkleritis, Keratitis, Uveitis, Chorioretinitis), Myokarditis mit AV-Block und allgemeinem Krankheitsgefühl wie Müdigkeit und Abgeschlagenheit. Auch Myalgien, Arthralgien und arthritische Beschwerden können auftreten. Da dies alles häufige Symptome sind und andererseits viele Menschen Antikörper gegen Borrelien besitzen, kann es hier zu Fehldiagnosen kommen. Dies ist bei Nichtansprechen auf eine Borrelienwirksame Therapie zu bedenken.
Stadium III: Meist vergehen Monate bis Jahre bis das dritte Stadium auftritt. Hauptsymptom ist jetzt die **Arthritis.** Hiervon sind die großen Gelenke, vor allem die Kniegelenke, betroffen. Weitere Symptome sind periphere Neuropathien, subakute Enzephalopathie, Kardiomyopathie und progressive Enzephalomyelitis mit Gedächtnis-, Konzentrations- und Verhaltensstörungen. Eine andere Manifestation des dritten Stadiums ist die **Acrodermatitis chronica atrophicans**, bei der die Haut durch Unterversorgung hauchdünn wird.
Persistierende Arthritis: Bei ca. 10% der Patienten im Stadium III erfolgt auch nach adäquater Therapie keine Besserung der Symptome. Dieses zunächst unerklärbare Phänomen wird auf Autoimmunprozesse zurückgeführt, denn es konnte festgestellt werden, daß das OspA der Borrelien einem Membranprotein der menschlichen Zellen, dem LFA-1, ähnelt. Somit könnte sich das Immunitätsgeschehen nicht nur gegen die Borrelien richten, sondern auch gegen körpereigene Zellen und dadurch Entzündungsprozesse auslösen. Unklar ist, warum dies überwiegend in den Gelenken geschieht, obgleich das LFA-1-Protein auch auf anderen Zellen vorkommt.

Borrelien-Infektion in der Schwangerschaft

Eine transplazentare Übertragung von *Borrelia burgdorferi* ist durch die im ersten Stadium auftretende Bakteriämie möglich. Es gibt aber keine Studien dazu, ob es zu intrauterinen Infektionen kommt. Über Einzelfälle von Frühgeburten, intrauterinem Fruchttod oder Mißbildungen wurde berichtet, ohne daß ein kausaler Zusammenhang bewiesen werden konnte. Ein Erythema migrans stellt aber auf alle Fälle auch in der Schwangerschaft eine Therapieindikation dar.

Laboratoriumsdiagnostik

Die Diagnostik der Lyme-Borreliose ist schwierig. Obgleich der direkte Nachweis des Erregers aus Hautbiopsiematerial, Gelenkpuntaten oder Liquor mittels direkter Immunfluoreszenz oder Anzüchtung in modifiziertem KELLY-Medium prinzipiell möglich ist, spielt er für die Routinediagnostik praktisch keine Rolle. Die Polymera-

se-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis der erregerspezifischen DNA wird sicher in Zukunft mehr Bedeutung haben, zur Zeit ist sie aber für den Einsatz an menschlichen Untersuchungsmaterial noch nicht etabliert. Die Ergebnisse der serologischen Reaktionen können auch nicht immer diagnostisch weiterhelfen. Das liegt zum Teil daran, daß die Borrelien aufgrund ihrer variablen Expression der Oberflächenantigene die bereits erwähnten immune escape-Mechanismen entwickeln können, die zu einer verzögerten humoralen Immunantwort führen. Auch eine frühe Antibiotikagabe kann die Bildung spezifischer Antikörper verhindern. Die zelluläre Immunreaktion tritt zwar sehr schnell ein, aber der Antikörpernachweis ist bei Patienten mit kurzer Krankheitsdauer oder mit lokalisierter Infektion in 50 bis 80% der Fälle negativ. Dennoch ist eine **serologische Verlaufskontrolle** bei Verdacht auf Borrelien-Infektion sinnvoll, denn in späteren Stadien findet man bei 70–100% der Patienten Antikörper der Klassen IgM und vor allem IgG. Die mögliche Persistenz des IgM kann zu einem diagnostischen Problem werden. Bei der Neuroborreliose ist die Bestimmung des Liquor/Serum-Index von großem diagnostischen Wert. Hierfür muß man gleichzeitig Serum und Liquor entnehmen und in beiden muß der Quotient von spezifischem IgG zu Gesamt-IgG bestimmt werden. Wenn dann die Werte zueinander in Beziehung gesetzt werden, kann man erkennen, ob Antikörperbildung im Liquorraum selbst stattgefunden hat, denn nur diese ist ätiologisch relevant. Die serologischen Reaktionen lassen sich zur Therapiekontrolle nicht verwenden, da die Antikörper auch bei erfolgreicher Therapie persistieren.

Für die serologische Diagnostik sollen verschiedene Testmethoden benutzt werden: ein EIA-Test als Screening-Verfahren, evtl. die indirekte Immunfluoreszenz als zusätzlicher Test und zur Bestätigung ein Immunoblot, mit dem Antikörper gegen verschiedene Borrelienproteine nachgewiesen werden. Um falsch-positive Reaktionen durch kreuzreagierende Antikörper gegen *Treponema pallidum* auszuschließen, ist bei positivem Reaktionsausfall der Borrelien-Serologie immer der TPHA- bzw. der TPPA-Test durchzuführen.

Therapie

Ein Erythema migrans soll bei Erwachsenen entweder mit Doxycyclin oder Amoxicillin für 2 bis 3 Wochen behandelt werden. Für Kinder kommt nur Amoxicillin in Frage. Mittel der Reserve bei Unverträglichkeit der genannten Präparate ist bei Erwachsenen und bei Kindern Erythromycin.

Für die Therapie der späteren Stadien gibt es keine einheitlichen Empfehlungen. Bei Karditis und bei den neurologischen Manifestationen werden Ceftriaxon oder Cefotaxim für 2 bis 4 Wochen gegeben, jedoch kommt auch Penicillin G in Betracht. Bei der Lyme-Arthritis steht bei Erwachsenen die Behandlung mit Doxycyclin in der oben genannten Dosierung über vier Wochen an erster Stelle, aber auch die genannten Cephalosporine sowie Amoxicillin werden eingesetzt. Wie bei anderen Infektionskrankheiten ist es ratsam, sich über den aktuellen Stand der Empfehlungen immer wieder neu zu informieren.

Eine Borreliose in der Schwangerschaft wird mit Penicillin G, Ceftriaxon oder Amoxicillin behandelt.

Epidemiologie und Prophylaxe

Die Borreliose ist die häufigste durch Zecken übertragene Erkrankung der nördlichen Hemisphäre. In Deutschland erkranken jährlich 0,1 bis 0,2% der Bevölkerung, d.h. die Inzidenz beträgt 100 bis 200 pro Hunderttausend Einwohner pro Jahr. Häufig wird die Infektion in den Naherholungsgebieten der Umgebung großer Städte erworben und zwar vor allem von April bis September. Im Gegensatz zu der ebenfalls durch Zecken übertragenen Frühsommer-Meningoenzephalitis ist das Auftreten der Borreliose streng mit der Verbreitung der Zecken korreliert. Die die Borreliose verursachenden Borrelienarten kommen nur auf der nördlichen Hemisphäre vor und zwar in unterschiedlicher Verteilung: in Europa findet man alle drei Arten, in Nordamerika nur *Borrelia burgdorferi* s.s. und in Japan nur die beiden anderen Arten. Die gleichfalls zum *B. burgdorferi* s.l.-Komplex gehörenden Arten *B. valaisiani* und *B. lusitaniae* wurden bisher nur aus Zecken isoliert. Die Übertragung erfolgt ausschließlich durch Schildzecken (*Ixodes*-Arten), die übertragenden Zeckenarten sind in Europa *Ixodes ricinus* („Holzbock"), in Asien *Ixodes persulcatus*, im östlichen Nordamerika *Ixodes scapularis* und im Westen *Ixodes pacificus*.

Die Durchseuchung der Zecken mit Borrelien läßt sich feststellen, denn der Erregernachweis

in den Zecken ist mittels Anzüchtung oder PCR möglich. Er ist in den Entwicklungsstadien der Zecken unterschiedlich und beträgt bei den Larven 1–3%, bei den Nymphen 10% , bei den adulten Zecken 20–30%. Borrelienreservoire sind in Europa Mäuse, Kaninchen, Rehe und andere Wildtiere. Die Zecken müssen in jedem Entwicklungsstadium einmal eine Blutmahlzeit aufnehmen und infizieren sich dabei mit dem Erreger. Hauptüberträger sind in Deutschland die zahlenmäßig am häufigsten vorkommenden Nymphen (vorletztes Entwicklungsstadium der Zecke). Das Risiko, nach einem Zeckenbiß eine Borreliose zu entwickeln, beträgt ca. 1%.

Da es bisher in Deutschland **keine Impfung** gegen die Borreliose gibt, sind andere prophylaktische Maßnahmen erforderlich. Diese sind sehr effektiv, wenn man einige wichtige Informationen beachtet: Zecken kommen nur in feuchten Gebieten unterhalb von 1000 m vor und befinden sich in einer maximalen Höhe von 1 m über dem Boden, also nicht auf Bäumen. Bei einem Gang durch Gebüsch werden sie abgestreift oder kriechen auf den Wirt. Dies kann einfach dadurch verhindert werden, daß man auf den breiteren Wegen bleibt, helle Kleidung und lange Hosen trägt und die Hosenbeine in die Socken steckt. Die Handgelenke sollten mit einem Repellent eingerieben werden. Da die Zecken erst einige Zeit auf dem Menschen herumkriechen bevor sie sich festsaugen, ist es wichtig, Kleidung und Körper öfter zu inspizie-

und *B. garinii* vorkommen, ist eine Impfstoffherstellung hier wesentlich schwieriger. Theoretisch wird auch in Betracht gezogen, daß die Immunität gegen das OspA zu Autoimmunreaktionen führen kann und deshalb andere Strukturen als Antigene ausprobiert werden sollten.

Eine **Meldepflicht** nach dem Infektionsschutzgesetz besteht für die Lyme-Borreliose nicht. Obwohl einige Bundesländer die Meldepflicht eingeführt haben, liegen für Deutschland keine aussagefähigen Zahlen vor. Es gibt sie aber für die USA, wo von Anfang an eine Meldepflicht für die Borreliose bestand. Die WHO hat zur Einrichtung nationaler Überwachungs-Programme aufgefordert, um mehr Informationen zum Auftreten dieser Erkrankung sammeln zu können.

4.24.6 Rückfallfieber

Wie der Name sagt, sind die Erkrankungen – das epidemische Rückfallfieber (= Läuse-Rückfallfieber) und das endemische Rückfallfieber (= Zecken-Rückfallfieber) – durch wiederholt auftretendes Fieber charakterisiert. Der Erreger des epidemischen Rückfallfiebers, *Borrelia recurrentis* wird durch Kleiderläuse übertragen, das endemische Rückfallfieber wird durch mindestens 15 verschiedene Borrelienarten hervorgerufen, deren Namen hier nicht extra aufgeführt werden. Sie werden durch Leder-

gen auf zwei linearen Plasmiden, von denen immer nur eines „aktiv" ist. Natürlicherweise kommt in Läusen nur *Borrelia recurrentis* vor, experimentell ist es aber gelungen, auch die durch Zecken übertragenen Arten in Läuse zu bringen.

Pathogenese und Klinik

Während der Fieberphasen sind die Borrelien im Blut des Patienten nachweisbar, in den afebrilen Phasen ziehen sie sich in innere Organe zurück, wo sie ihre antigenen Oberflächenstrukturen verändern. Wenn dann die veränderten Borrelien wieder ins Blut gelangen, „passen" die bereits gebildeten Antikörper nicht, und es kommt erneut zu Fieber. In den inneren Organen kommt es zu entzündlichen Reaktionen, Nekrosen und Blutungen. Leber, Milz und ZNS sind vor allem betroffen, aber auch Myokarditis, gastrointestinale und renale Symptome können auftreten und den Krankheitsverlauf komplizieren.
Die klinischen Manifestationen beider Rückfallfieber sind ähnlich, aber das Zecken-Rückfallfieber verläuft in der Regel milder als das Läuse-Rückfallfieber. Nach einer Inkubationszeit von 4–18 Tagen tritt die erste Episode akut mit hohem Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Myalgien, Husten und Lichtscheu auf. Weiterhin kann es zu Blutungen, Hepato- und Splenomegalie sowie bei 30% der Patienten zu neurologischen Symptomen kommen. Als schwere Komplikation ist eine Myokarditis zu werten. Im Verlauf der Erkrankung treten mindestens fünf Rückfälle auf. Die Letalität kann beim Läuse-Rückfallfieber bis zu 40% betragen, beim Zecken-Rükfallfieber bis zu 5%. Die Patienten sterben meist an Herz- oder Leberversagen oder an Hirnblutungen.

Laboratoriumsdiagnose

Der klinische Verdacht auf Rückfallfieber wird am besten durch den direkten Nachweis der Borrelien im peripheren Blut des fiebernden Patienten gestellt. In der febrilen Phase lassen sich die Erreger in 70% der Fälle mittels Dunkelfeldmikroskopie oder GIEMSA-Färbung darstellen, in der afebrilen Phase ist der Erregernachweis praktisch nicht möglich. Serologische Reaktionen sind nicht allgemein vorhanden und auch nur von geringem Aussagewert.

Therapie

Eine einmalige Gabe von 0,5 g Tetracyclin ist bei Läuse-Rückfallfieber wirksam. Als Alternativen kommen Penicillin G und Erythromycin in Frage. Beim Zecken-Rückfallfieber werden für 5–10 Tage täglich 2 g Tetracyclin oder Erythromycin gegeben. Wie bei der Therapie der Syphilis kann eine JARISCH-HERXHEIMER-Reaktion auftreten.

Epidemiologie und Prophylaxe

Das Auftreten von Rückfallfieber ist naturgemäß an seine Überträger gebunden. An Läuse-Rückfallfieber starben im ersten Weltkrieg 6 Millionen Menschen, von 1943 bis 1945 traten Epidemien in Tunesien, Marokko, Algerien und Ägypten mit insgesamt ca. 1 Million Erkrankten auf. Durch die wirkungsvolle Bekämpfung der Kleiderläuse und die Tatsache, daß der Mensch das einzige Erregerreservoir ist, kommt die Erkrankung heute nur noch in begrenzten Gebieten Afrikas, Ostasiens und Südamerikas vor. Das Reservoir der Zecken-übertragenen Borrelien sind wilde Nager; eine Ausrottung dieser Erkrankung ist somit nicht möglich. Zeckenrückfallfieber kommt auch heute noch in Nord- und Südamerika, Zentralasien, Indien, Nordafrika und in Spanien vor. Die Lederzecken kommen nachts zum Blutsaugen und verlassen den Menschen sofort wieder. Der Stich wird meist erst am nächsten Tag durch die heftige Reaktion bemerkt.
Die Vernichtung des Überträgers, die bei den Läusen möglich ist, läßt sich für die Zecken nicht durchführen. In den entsprechenden Gebieten muß man sich durch Repellents und mechanisch vor Zeckenstichen schützen.
Der direkte oder indirekte Nachweis von *Borrelia recurrentis* ist ist nach dem Infektionsschutzgesetz **meldepflichtig.**

4.24.7 Die Gattung Leptospira

Die Gattung umfaßt apathogene und pathogene Arten, die serologisch weiter unterteilt werden können. Die apathogenen Leptospiren werden seit 1967 in der Spezies *Leptospira biflexa* und die humanpathogenen Arten in der Spezies *Leptospira interrogans* zusammengefaßt. Innerhalb der Spezies *Leptospira interrogans* lassen sich ca. 180 verschiedene „Typen" (Serovare) unterscheiden, die früher als Arten angesehen wur-

den und daher Artnamen haben. Häufig vorkommende Serovare („Arten") sind *Leptospira grippotyphosa, Leptospira icterohaemorrhagiae, Leptospira canicola* und *Leptospira pomona*. Die Bestimmung der Serovare kann aus epidemiologischen Gründen wichtig sein.
Die menschlichen Leptospirenerkrankungen sind Anthropozoonosen, die weltweit vorkommen und in unterschiedlichen Schweregraden verlaufen. Primäre Infektionsquelle sind immer Leptospiren-infizierte Tiere, vor allem Ratten. Die frühere Annahme, daß die unterschiedlichen Verläufe der Erkrankung durch die verschiedenen Leptospirenarten bedingt sind, ist heute nicht mehr gültig (z.B. „Schlamm-Feldfieber" durch *L. grippothyphosa*; „Schweinehüterkrankheit" durch *L. hyos* s. *tarassovi*; „Canicolafieber" durch *L. canicola*; „WEILsche Krankheit" durch *L. icterohaemorrhagiae*).

Geschichte
1886 beschrieb WEIL die später nach ihm als Morbus WEIL bezeichnete Erkrankung als „eigentümliche, mit Milztumor, Ikterus und Nephritis einhergehende Infektionskrankheit", 1894 charakterisierte MÜLLER in Schlesien das „Schlammfieber" in ähnlicher Weise. Der Erreger wurde erst 1915 bei Grubenarbeitern in Japan und 1916 bei deutschen Soldaten in Frankreich entdeckt. Bald danach stellte man fest, daß er mit Rattenurin ausgeschieden wird, 1917 wurde ihm der Gattungsname *Leptospira* gegeben. Nachdem man Methoden zur Abgrenzung unterschiedlicher Leptospiren entwickelt hatte, glaubte man zunächst, daß sich apathogene Wasser-Leptospiren in die als pathogen erkannten Arten umwandeln könnten. Dies wurde in den 30er Jahren widerlegt, nachdem viele konstant unterschiedliche Arten entdeckt wurden.

Eigenschaften der Erreger

Leptospiren sind 6–20 µm lang, aber nur 0,1 µm breit. Sie haben 12–24 gleichmäßige Windungen, sind insgesamt flach gebogen und an den Enden stärker abgeknickt. Ihre Bewegungsart ist ein rasches Drehen um die Längsachse. Die Protein-Polysaccharide ihrer Zellwand sind gattungsspezifisch, die Lipopolysaccharid-Strukturen sind aufgrund ihrer Unterschiedlichkeit die Grundlage für die Einteilung in die oben erwähnten Serovare. Leptospiren sterben durch Austrocknung und auch im sauren Milieu schnell ab. Bei 56 °C werden sie innerhalb von 5 Minuten abgetötet, in der Kälte können sie aber lange überleben. Im Gegensatz zu den Treponemen sind Leptospiren in künstlichen Medien anzüchtbar. Man benutzt dafür z. B. das Medium nach KORTHOFF, welches 10% Kaninchenserum enthält. Unter aeroben Bedingungen bei einer Temperatur von 27–30 °C benötigen die Leptospiren allerdings 14–20 Tage zum Wachstum.

Pathogenese

Neben den bereits erwähnten Ratten können Hunde, Katzen, Mäuse und Igel mit Leptospiren infiziert sein. Sie besiedeln bei den Tieren symptomlos die Nieren und werden mit dem Urin ausgeschieden. In warmem Wasser und im Boden können sie wochenlang infektionsfähig bleiben. Der Mensch infiziert sich durch direkten Kontakt mit Urin, Blut oder Gewebe der Tiere, häufiger aber durch indirekten Kontakt, d.h. vor allem mit Wasser, das mit Tierurin verunreinigt ist. Eintrittspforten sind kleinste Hautverletzungen, aber auch die Konjunktiven und die Schleimhaut des Rachenraumes. Die Leptospiren befallen auf dem Blutweg alle Organe, insbesondere Niere und Leber, in denen es zu hämorrhagischen Veränderungen kommt. Die Pathogenitätsfaktoren der Leptospiren sind noch nicht hinreichend erforscht. An dem komplexen Geschehen sind exogene Enzyme wie Hyaluronidase, Katalase und Hämolysine sowie ihre Beweglichkeit beteiligt.

Klinik

Die Leptospirose ist eine zweiphasig verlaufende Erkrankung. Sie tritt in einer schweren ikterischen Form, einer mittelschweren fakultativ ikterischen Form und einer gutartigen anikterischen Form auf.
Nach einer **Inkubationszeit** von 7–14 Tagen beginnt die Erkrankung aus vollem Wohlbefinden heraus mit hohem Fieber und Schüttelfrost. In dieser ersten Krankheitsphase kommen Myalgien, Kopfschmerzen und Augensymptome (Konjunktivitis, Episkleritis) hinzu. Als weitere Symptome sind ein makulöses Exanthem, relative Bradykardie und Hypotonie möglich. Diese Symptome dauern 3–8 Tage an und sind durch die in dieser Phase ablaufende transitorische Bakteriämie bedingt.
Nach kurzem symptomfreien Intervall tritt wieder Fieber auf, und es kommt zur Organmanifestation. Vor allem sind Niere und Leber betroffen, aber auch das Endothel der Gefäße und die Meningen werden befallen. Daraus resultieren die klinischen Symptome Ikterus, Leberschwellung, Nephritis, die bei 50% der Patienten zum

akuten Nierenversagen führt, Blutungen, Meningitis, Enzephalomyelitis, Hirnnervenlähmungen, Sehstörungen u. a. Der Tod tritt durch Nieren- und Leberversagen oder durch Herzversagen ein. Die Letalität der ikterischen Form beträgt bis zu 20% und nimmt mit dem Alter zu.

Bei der anikterischen Verlaufsform stehen

Patienten in Flüssen oder in stehenden Gewässern gebadet haben oder Kanu gefahren waren. Die meisten Fälle treten im Sommer und im Herbst auf. Übertragung von Mensch zu Mensch ist extrem selten, obgleich die Erreger einige Wochen mit dem Urin ausgeschieden werden.

Prophylaxe: Expostionsprophylaxe und Redu-

Seit 1969 haben auch in der Pflanzen- und Insektenpathologie zellwandlose Erreger große Bedeutung gewonnen (Spiroplasmen und bisher nicht züchtbare „mycoplasma-like organisms"-MLO; *Entomoplasmatales*).

4.25.1 Allgemeines

Definition und Systematik

Mykoplasmen sind **Prokaryoten,** die sich von den übrigen Bakterien vor allem durch das **Fehlen der Zellwand**, das **kleine Genom** und den **Cholesteringehalt ihrer Membran** unterscheiden. In ihrem Verhalten ähneln sie teilweise den zellwanddefekten **L-Formen** der Bakterien (Abb. 4.66). Häufig wird die allgemeine Bezeichnung **„Mykoplasmen"** für die gesamte Gruppe zellwandloser Erreger verwendet, die derzeit als *Mollicutes* oder *Tenericutes* zusammengefaßt werden. Für den Menschen wichtig sind die Gattungen *Mycoplasma* und *Ureaplasma,* daneben werden gelegentlich Keime der Gattung *Acholeplasma* gefunden. Phylogenetisch besteht Verwandtschaft zu *Clostridium*.

Morphologie und Vermehrung

Mykoplasmen färben sich mit den üblichen Farbstoffen nur schlecht an, bessere Ergebnisse lassen sich mit der GIEMSA-Färbung erzielen. Die Zellform wird bei der üblichen Fixierung meist verändert. Mit Hilfe ihres Zytoskelettes können Mykoplasmen aktiv ihre Gestalt verändern und sehr verschiedene Formen bilden (Abb. 4.67): Häufigste Grundform ist die kokkoide Zelle (0,3–0,8 µm Durchmesser), daneben finden sich Ringe, Scheiben sowie Fäden unterschiedlicher Länge. Abweichend davon weisen *Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma genitalium* und einige tierpathogene Arten eine Gliederung in Zellkörper und Spitzenstruktur auf und können sich auf Oberflächen gleitend fortbewegen.

Durch das Fehlen der starren Zellwand sind Mykoplasmen **filtrierbar** durch übliche bakteriendichte Filter, **resistent** gegen zellwandwirksame Antibiotika (z.B. Betalaktame) und **empfindlich** gegen homologes Antiserum (Wachstumshemmtest).

Mykoplasmen vermehren sich wie andere Prokaryoten durch Zweiteilung ihres Chromosoms, gefolgt von der Trennung der Tochterzellen. Diese Trennung erfolgt nicht, wie bei den Bakterien, durch Bildung von Quersepten, sondern



Abb. 4.66 Schematische Darstellung der Wandverhältnisse bei Bakterien, L-Formen und Mykoplasmen (aus: aktuelle Urologie *6* (1975) 239).

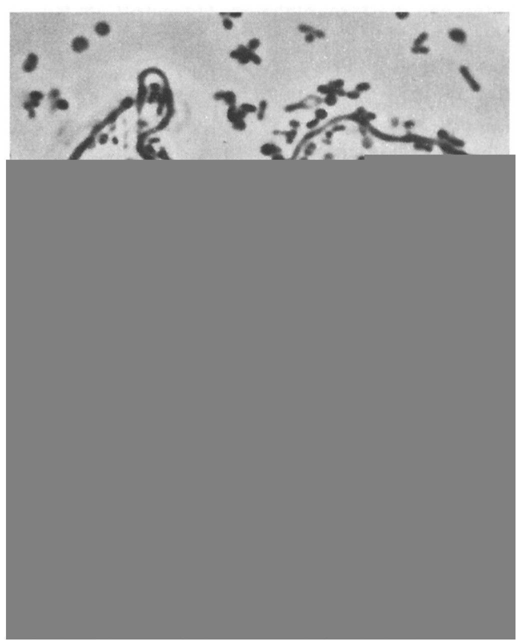


Abb. 4.67 Lebende Zellen von *Mycoplasma hominis*. Phasenkontrast; Strich 5 µmm.

Mit Erregernachweis	▪ Primär atypische Pneumonie ▪ Infekte des oberen Respirationstraktes ▪ Pleuritis, Otitis media, Myringitis
Komplikationen und Folgekrankheiten ohne Erregernachweis	▪ Perikarditis, Myokarditis, STEVENS- JOHNSON-Syndrom (Erythema exsudativum multiforme) ▪ unspezifische Hepatitis ▪ Arthralgien, Arthritis ▪ Erythema nodosum ▪ Hämolytische Anämien ▪ Thrombopenische Purpura ▪ Meningitis, Meningoenzephalitis[1] ▪ Polyneuritis, GUILLAIN-BARRÉ-Syndrom

[1] ganz vereinzelt fraglicher Erregernachweis

Tab. 4.59 Krankheitsbilder, die während oder nach einer *M. pneumoniae*-Infektion beobachtet werden

Folgekrankheiten in anderen Bereichen des Körpers auftreten (Tab. 4.59). Bessere diagnostische Methoden lassen allerdings heute manche Fälle einer früher vermuteten *M. pneumoniae*-Erkrankung zweifelhaft erscheinen, so z.B. bei Pankreatitis und Karditis.

Diagnostik und Therapie

Erregernachweis: Untersuchungsmaterialien sind Rachenabstrich, retronasales Aspirat (besonders bei Kindern), Sputum oder eine bronchoalveoläre Lavage. Für die Kultur sollte das Material in ein Transportmedium gegeben werden. Der schnelle und direkte Nachweis der Erreger im Material ist mit Enzymimmunoassay, Oligonukleotidsonden oder, besonders empfindlich, mit der PCR möglich. Die Anzüchtung kann aerob auf Agar sowie in flüssigen oder diphasischen Nährböden erfolgen. *M. pneumoniae* wächst auf Agarmedien nach 6–12 Tagen in mittelgroßen granulierten Kolonien ohne typische Spiegeleiform. Die Identifizierung erfolgt orientierend durch Nachweis von Glukosespaltung sowie Hämadsorption oder Hämolyse, endgültig durch Wachstumshemmtest oder Epifluoreszenz.

Antikörpernachweis: Für die Diagnostik wird vor allem die KBR mit Glykolipid-Antigen eingesetzt, daneben sind ein passiver Hämagglutinationstest, Mikropartikelagglutination, indirekte Immunfluoreszenz und Enzymimmunoassay verfügbar. Die mit der KBR erfaßbaren Antikörper (überwiegend IgM) steigen etwa mit Beginn der zweiten Krankheitswoche an und fallen nach Abklingen der Symptome schnell ab. Bei Reinfektionen ist die KBR unzuverlässig. Das verwendete Glykolipidantigen ist nicht erregerspezifisch, falsch-positive Reaktionen der KBR sind bekannt. Neuere Verfahren (ELISA) verwenden als Antigene meist Gesamt-Proteine von *M. pneumoniae*; auch hier sind Kreuzreaktionen nicht auszuschließen. Tests mit spezifischem Antigen, z.B. dem 170 kDa-Adhäsin, sind zuverlässiger.

Bei der *M. pneumoniae*-Infektion treten häufig **Kälteagglutinine** auf, die mit dem I-Antigen in Erythrozyten reagieren. Ihr Nachweis hat kaum noch klinische Bedeutung.

Therapie

M. pneumoniae-Infektionen werden mit Tetrazyklinen oder, besonders bei Kindern, mit Makroliden behandelt. Bei zu frühem Absetzen der Therapie können Rezidive auftreten.

Epidemiologie

M. pneumoniae ist weltweit verbreitet, ausschließliches Reservoir ist der **Mensch.** Die Erreger werden durch Tröpfcheninfektion übertragen. Empfindlichkeit und offenbar geringe Infektiosität machen meist einen intensiveren Kontakt notwendig, die Infektion breitet sich daher am häufigsten in Familien, Kinderheimen, Schulen, militärischen Einrichtungen usw. aus. Im Abstand von einigen Jahren kommt es zu ausgedehnterem epidemischem Auftreten.

Bei Kindern unter 5 Jahren verläuft die Infektion meist asymptomatisch, der Erkrankungsgipfel liegt zwischen 5–15 Jahren. Der Anteil von *M. pneumoniae*-Infekten an allen Pneumonien wird auf 5–20 % geschätzt, die Antikörperprävalenz beträgt im Erwachsenenalter über 50%.

Das Überstehen einer *M. pneumoniae*-Infektion scheint jenseits des fünften Lebensjahres eine zeitlich begrenzte Immunität zu hinterlassen. Mehrfache Reinfektionen sind möglich. Ein brauchbarer Impfstoff existiert nicht.

Sonstige Mykoplasmen im Respirationstrakt

Neben *M. pneumoniae* spielen andere *Mycoplasma*-Arten bei Erkrankungen des Respirationstraktes keine wesentliche Rolle, eine pathogene Wirkung von *M. hominis* wurde bisher nur im Experiment gefunden. *M. orale* scheint sich unter geeigneten Bedingungen an infektiösen Prozessen mitzubeteiligen. Die Rolle der Mykoplasmen bei chronischen Bronchitiden ist noch nicht geklärt.

4.25.3 Erkrankungen im Urogenitaltrakt

Mycoplasma hominis und *Ureaplasma urealyticum* werden häufig zusammen oder unter vergleichbaren Umständen im Urogenitaltrakt gefunden. Sie versursachen keine charakteristischen Krankheitsbilder, sondern sind zu einem wechselnden Prozentsatz an der Genese unspezifischer Erkrankungen mit verschiedener Ätiologie, aber gleicher Symptomatik beteiligt.

Ätiologie und Pathogenese

M. hominis vermehrt sich relativ schnell, toleriert auch Nährböden mit niedrigem Serumgehalt und spaltet Arginin. Seine Zellen zeigen eine typische morphologische Vielfalt (Abb. 4.67). Die Kolonien sind relativ groß (0,5–1 mm Durchmesser). Die Spezies ist in ihrer Antigenstruktur heterogen. *U. urealyticum* wächst bei niedrigem pH (6,0), bildet nur kleine Kolonien (< 0,1 µm) und nützt offenbar die intensive **Harnstoffspaltung** als Energiequelle. Bisher sind mindestens 14 Serovare bekannt.

Beide Erreger sind fakultativ-pathogene Keime, die häufig den Urogenitaltrakt besiedeln, aber auch Erkrankungen hervorrufen können. Die an der Pathogenese beteiligten Faktoren sind mit

Urethritis und Prostatitis. Im **weiblichen Genitaltrakt** wurden *U. urealyticum* und *M. hominis* bei Bartholinitis, Salpingitis, tubo-ovarialen Abszessen, Douglas-Abszessen, Purperal-Infektionen, Infektionen post abortum sowie bei milden Septikämien nach Aborten und Geburten isoliert. Beide Erreger werden auch bei Chorioamnionitis mit foetaler Infektion gefunden. Bei Fehlbesiedlungen der Vagina (Vaginose, Kolpitis) tritt besonders *M. hominis* vermehrt auf, ohne daß eine ätiologische Rolle gesichert ist. Bei Neugeborenen kann *M. hominis* gelegentlich leichte und schwere Infektionen bis hin zur Meningitis hervorrufen. Umstritten sind Mykoplasmen als ursächliche Erreger bei Aborten. In Blase und oberen Harntrakt lassen sich bei 10–15% der Pyelonephritis-Fälle Mykoplasmen, überwiegend *U. urealyticum*, nachweisen. Die Keimzahlen sind allerdings meist niedrig, die klinische Bedeutung ist noch ungeklärt.

Sonstige *Mycoplasma*-Arten im Genitaltrakt

Gelegentlich wird *M. fermentans* ohne nachweisbare Beziehung zur klinischen Symptomatik gefunden. Nach zum Teil wochenlanger Bebrütung konnten aus Genitalproben Stämme von *M. genitalium* isoliert werden. Diese Spezies gleicht in Form, Beweglichkeit und einigen Antigenen *M. pneumoniae*, ihre pathogene Bedeutung ist unklar. Im Urin von AIDS-Patienten wird *M. penetrans* gefunden und von einigen Autoren als Kofaktor der AIDS-Pathogenese diskutiert.

4.25.4 Sonstige Mycoplasma-Infektionen

M. hominis findet sich gelegentlich – besonders nach intensiver Betalaktam-Therapie – als alleiniger Wundkeim bei Patienten auf Intensivstationen, nach Transplantationen, Thoraxoperationen oder anderen Eingriffen. Aus Material maligner Tumoren werden in einzelnen Fällen verschiedene *Mycoplasma*-Arten isoliert, die als sekundäre Besiedler ohne ätiologische Bedeu-

aus Nährbodenbestandteilen (z.B. *M. arginini* aus Rinderserum, *M. hyorhinis* aus Trypsin), die üblicherweise nur steril filtriert werden. Mykoplasmen können aufgrund ihrer Plastizität die Filter passieren. Da die Mykoplasmen häufig keine auffallenden Veränderungen der befallenen Zellen verursachen, kann ihre Anwesenheit unbemerkt bleiben. Die extrazellulär wachsenden Mykoplasmen können jedoch die Eigenschaften der Zellen und ihr Verhalten gegenüber Viren erheblich beeinflussen. Manche virologischen und zellbiologischen Befunde früherer Jahre sind daher von fraglichem Wert. Die Eliminierung der Mykoplasmen aus einem befallenen Zellstamm ist schwierig und manchmal unmöglich.

Literatur

MANILOFF, J. et al. (Eds.): Mycoplasmas. Molecular Biology and Pathogenesis. American Society for Microbiology, Washington DC, 1992.

RAZIN, S., J.G. TULLY (Eds.): Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmology, Vol. I und II. Academic Press, New York 1995.

TAYLOR-ROBINSON, D.: *Mycoplasma* and *Ureaplasma*.

Tab. 4.60 Zugehörigkeit der früheren *Rickettsiaceae* zu den Protobacteria

Subgruppe	Gattungen
α1	*Rickettsia* *Orientia* *Ehrlichia*
α2	*Bartonella*
γ	*Coxiella*

4.26.1 Die Gattungen Rickettsia und Orientia

Eigenschaften der Erreger

Einteilung: Die Erreger der Gattung *Rickettsia* können anhand von Antigenstruktur und Übertragungsweg in zwei Gruppen eingeordnet werden (Tab. 4.61): Fleckfieber- Gruppe (FG) und Zeckenbißfieber-Gruppe (ZG). Die im folgenden genannten Eigenschaften gelten auch für die Gattung *Orientia*.

Morphologie und Genom: Rickettsien sind

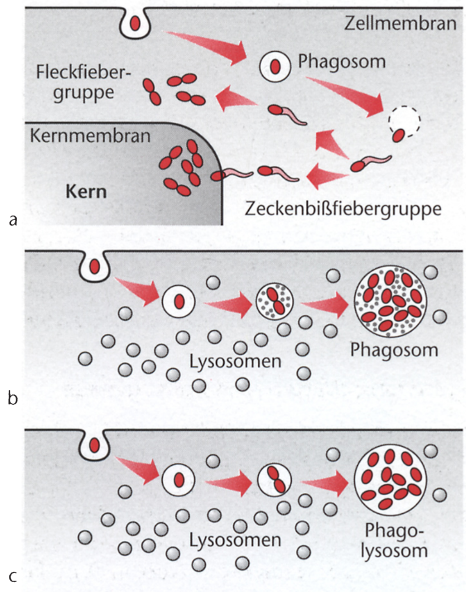


Abb. 4.69 Überlebensstrategien der obligat intrazellulären Bakterien: (a) *Rickettsia*, (b) *Coxiella*, (c) *Ehrlichia* und *Chlamydia*.

Wirtes, die Erreger werden transovarial an die nächste Generation weitergegeben.
Die Rickettsien werden durch blutsaugende Arthropoden bzw. ihren Kot auf Säugetiere übertragen. Die Reservoire sind Mensch (*R. prowazekii)*, Säugetiere oder Arthropoden (Tab. 4.61). Einige Arten bleiben im Läusekot für längere Zeit infektiös.

Diagnostik und Therapie

Wichtig ist eine genaue **Reiseanamnese,** gegebenenfalls der Nachweis einer „tache noire" (schwarze Primärläsion bei einigen Rickettsiosen). Der Erregernachweis ist möglich (Zellkultur), aber wegen der hohen Infektiosiät nicht gebräuchlich. In Biopsien können die Erreger durch Direktimmunfluoreszenz oder PCR nachgewiesen werden. Die Diagnose wird fast immer serologisch durch rickettsienspezifische Methoden (Mikroagglutination, Mikroimmunfluoreszenz, ELISA) gestellt. Die WEIL-FELIX-Reaktion ist wenig empfindlich und nicht spezifisch.
Das Wachstum von Rickettsien wird durch Tetrazykline, Chloramphenicol, Makrolide und Rifampicin gehemmt. Fluorochinolone sind nur begrenzt wirksam.

4.26.2 Fleckfieber-Gruppe

Epidemisches Fleckfieber

Erreger des epidemischen Fleckfiebers (englisch „typhus") ist *R. prowazekii* (Tab. 4.61). Die Erkrankung beginnt nach einer Inkubationszeit von 10–14 Tagen mit Schüttelfrost, Kopf- und Gliederschmerzen sowie hohem Fieber (10–20 Tage, oft über 40 °C). Das makulöse Exanthem erscheint nach ca. 7 Tagen und verbreitet sich schnell vom Stamm auf die Extremitäten. Gleichzeitig treten zerebrale Erscheinungen (Somnolenz, Stupor) auf, etwa 70% der Kranken haben Husten und Pneumonie. Die Letalität des unbehandelten Fleckfiebers liegt je nach Lebensalter zwischen 5 und über 50%. Etwa 10–30 Jahre nach der Erstinfektion können persistierende Erreger endogen eine milde Zweiterkrankung auslösen, die sogenannten BRILL-ZINSSERsche Krankheit. Kleiderläuse können die Rickettsien dann auf neue Patienten übertragen.
Die **Diagnose** wird meist serologisch mit Mikroimmunfluoreszenztest (MIF) und gegebenenfalls Immunblot gestellt. Immunologische und molekulargenetische Verfahren des Erregernachweises sind noch nicht allgemein verfügbar.
In der **Therapie** wird vor allem Doxycyclin als Einmal- oder Mehrfachdosis verwendet.
Die **Epidemiologie** des Fleckfiebers wird von dem Verhalten der Kleiderlaus und damit den hygienischen Verhältnissen bestimmt. Die Verbreitung setzt enges Zusammenleben unter ungünstigen Bedingungen (z.B. Not-/Kriegszeiten) voraus. Die Erreger bleiben im Läusekot längere Zeit infektiös.
Die **Prophylaxe** besteht in Beseitigung der Kleiderläuse durch Insektizide und konsequente Behandlung der Erkrankten.
Meldepflicht besteht nach dem Infektionsschutzgesetz für den direkten oder indirekten Nachweis von *Rickettsia prowazekii*.

Murines Fleckfieber

Der Erreger, *R. typhi,* hat sein Reservoir in der Ratte und wird von dort aus gelegentlich durch Flöhe bzw. Flohfaezes übertragen (endemische Erkrankung). Die Diagnose wird serologisch gestellt (MIF, ELISA). In den USA treten neuerdings auch vermehrt Infektionen durch die Kette Opossum-Katze-Katzenfloh-Mensch auf.

4.26.3 Zeckenbißfieber-Gruppe

Die auch als „spotted-fever“ bezeichneten Erkrankungen lassen sich nach ihrer geographischen Verbreitung unterscheiden (Tab. 4.61):
Rocky Mountain Spotted Fever (RMSF). Erreger ist *R. rickettsii.* Die klinischen Symptome gleichen denen des Fleckfiebers, das Exanthem beginnt jedoch an den Extremitäten. Die Letalität ist dem Fleckfieber vergleichbar. Epidemiologie und Verbreitung werden vom Kontakt mit Zecken bestimmt. Die Erkrankung tritt in allen Teilen des amerikanischen Kontinents auf. Die Diagnose wird meist serologisch gestellt.
Weitere Zeckenbißfieber. Die übrigen Zeckenbißfieber, (s. Tab. 4.61) verlaufen bei prinzipiell gleichen Symptomen meist milder als das RMSF. An der Stelle des Zeckenstiches entsteht als Primärläsion meist ein kleines nekrotisches Geschwür mit schwarzer Kruste (*tache noire*, Erregernachweis möglich!), begleitet von einer regionären Lymphadenitis.
Rickettsien-Pocken. Die meist gutartige Erkrankung unterscheidet sich von den anderen Rickettsiosen vor allem durch Bläschenbildung auf dem makulo-papulösen Exanthem (Windpocken-ähnliches Bild).

4.26.4 Tsutsugamushi-Fieber

Das Buschfieber (scrub typhus) durch *O. tsutsugamushi* verläuft häufig sehr schwer mit hohem Fieber und Myalgie, die Letalität kann ohne Behandlung bis zu 30 % betragen. Der Erreger ist antigenetisch heterogen, eine stärkere Immunität besteht nur gegenüber dem homologen Typ.

4.26.5 Die Gattung Ehrlichia

Die Erreger der Gattung *Ehrlichia* sind in der Veterinärmedizin seit Jahrzehnten bekannt, aber erst 1986 bzw. 1990 wurden die Erreger (*E. chaffeensis* und Human Granulocytic Ehrlichia, HGE) bei Infektionen des Menschen gefunden. Die schon seit 1954 in Japan bekannte *Ehrlicha sennetsu* wurde lange für eine Rickettsienart gehalten. Neben den drei menschenpathogenen Spezies (Tab. 4.62) gibt es mindestens noch sieben weitere tierpathogene Arten.

Erregereigenschaften und Pathogenese

Ehrlichien sind kokkoide Stäbchen (0,2–1,5 µm) mit Peptidoglykanschicht, die nach Phagozytose in der jeweiligen Wirtszelle (s. Tab. 4.62) die Phagosom-Lysosomen-Fusion verhindern und sich in kleinen multiplen Vakuolen, den sogenannten Morulae, vermehren (Abb. 4.69, c). Dabei entstehen größere retikuläre und kleinere kondensierte Zellen, sichere Hinweise auf einen Entwicklungszyklus fehlen jedoch. Bisher wurden nur wenige Stämme in der Zellkultur isoliert. Während die Spezies-Identität von *E. chaffeensis* gesichert erscheint, wird wegen der hohen Sequenzhomologie eine Identität von HGE und *E. equi* diskutiert. Zwischen den verschiedenen *Ehrlichia*-Arten besteht eine hohe Kreuzantigenität.
LPS wurde bisher nicht gefunden.
E. chaffeensis wird in den Makrophagen fast aller Organe gefunden und führt zu lokalen Nekrosen, perivaskulärer Lymphohistiozytose und Granulomen. Über das HGE-Agens ist wenig bekannt, es befällt vermutlich myeloide Vorläuferzellen der Neutrophilen im Knochenmark und verändert Funktionen der reifen Granulozyten.

Tab. 4.62 Erreger der Ehrlichiosen des Menschen

Genogruppe	Art	Säugetierwirt	bekannte Überträger	Zielzelle
I	*E. chaffeensis*	Mensch, Rotwild	*Amblyomma*, Dermacentor**	Monozyten/ Makrophagen
II	Humane Granulozytäre E.	Mensch; Pferd?, Hund?	*Ixodes**	Granulozyten
III	*E. sennetsu*	Mensch	roher Fisch (Fischegel)	Monozyten/ Makrophagen

* Zecken-Gattungen

Erkrankungen

Die Erkrankungen durch *E. chaffeensis* und HGE sind klinisch gleich: eine **akute grippeähnliche Erkrankung** mit Fieber, Kopfschmerzen und Myalgien, begleitet von Thrombopenie, Leukopenie und erhöhten Lebertransaminasen. Komplikationen sind unter anderem Meningoenzephalitis, ARDS und Schock. Die Letalität liegt bei 2–3%; die Erkrankung tritt häufig im höheren Lebensalter auf. *E.sennetsu* verursacht in Japan eine Mononukleose-ähnliche Erkrankung.

Epidemiologie

Fast alle bisherigen Erkrankungen durch *E. chaffeensis* und HGE sind in den USA beschrieben, aus Europa wurden bisher nur wenige Fälle berichtet. Das Vorkommen der Ehrlichien ist an die jeweiligen Zeckenarten als Überträger gebunden. In Europa wurde bisher fast ausschließlich das HGE-Agens gefunden, übertragen von *Ixodes*-Arten, die auch mit *Borrelia burgdorferi* oder FSME-Virus infiziert sein können. *E. chaffeensis* findet sich in den USA in *Amblyomma* und *Dermacentor,* das Reservoir in Europa ist noch unklar. Die Seroprävalenz von HGE betrug bei Waldarbeitern in Süddeutschland 14%, bei Patienten mit Lyme-Borreliose 11,4%, bei Blutspendern 1,9%. Die Zahl der bekannten *Ehrlichia*-Infektionen dürfte mit verbesserten diagnostischen Verfahren erheblich ansteigen. Für die Übertragung soll ein längeres Saugen der Zecken (> 13 h) notwendig sein.

Diagnose und Therapie

Anamnese (Zeckenkontakt!), an mögliche **Doppelinfektion** mit *B. burgdorferi* oder ggf. FSME denken. Der mikroskopische Nachweis von Morulae in Monozyten bzw. Granulozyten ist nur selten erfolgreich. Die PCR ist mit ca. 80–90% relativ empfindlich, aber noch wenig verbreitet. Am ehesten verfügbar ist die – noch nicht standardisierte – Serologie mittels Immunfluoreszenz (IFT), wobei für HME als Antigen *E. chaffeensis* oder *E. canis* verwendet werden, für HGE wird auch die Kreuzreaktion mit *E. equi* ausgenutzt.
Tetrazykline, insbesondere Doxycyclin, sind gut wirksam, nach Entfieberung sollten sie mindestens noch drei Tage weitergegeben werden. Bei Schwangeren kann Rifampicin eingesetzt werden. Spezifische Maßnahmen der Prophylaxe sind nicht bekannt, als wirkungsvollste Maßnahme wird das schnelle Entfernen der Zecke empfohlen.

4.26.6 Coxiella burnetii

Eigenschaften des Erregers

C. burnetii ist ein gram-negatives Stäbchen mit Peptidoglykanschicht. Bei seiner intrazellulären Vermehrung entstehen durch sogenannte vegetative und sporogene Differenzierung zwei Formen: kompakte „small cell variants" (SCV) und aufgelockerte „large cell variants" (LCV) von 0,2–0,5 bzw. 1 µm Größe. Vergleichbar den Chlamydien sind die SCV umweltresistent und infektiös, sie sollen sich jedoch auch teilen können. Diskutiert wird eine sporenähnliche Struktur. Coxiellen werden phagozytiert und vermehren sich im sauren Milieu des Phagolysosoms bei pH 4,5 (Abb. 4.69, b). Im Gegensatz zu den Rickettsien sind sie zur Glykolyse fähig.
Das LPS der Coxiellen weist einen Phasenwechsel ähnlich der glatt/rauh-Variation bei Enterobakterien auf: Phase I (glatt) findet sich bei Erregern aus infizierten Tieren oder Menschen, die weniger infektiöse Phase II tritt nach zahlreichen Passagen in Zellkulturen/Hühnerei auf. LPS der Phase I behindert sterisch die Bindung von Antikörpern an der Zelloberfläche.

Erkrankungen

C. burnetii wird meist inhaliert, daher sind am häufigsten die Lungen befallen. Die Erreger generalisieren jedoch und können alle anderen Organe infizieren.
Das **Q-Fieber** (query-fever) verläuft meist unter dem Bild einer „Grippe" mit heftigen frontalen Kopfschmerzen, Myalgien und mit einer atypischen Pneumonie. Ein Exanthem besteht selten. Die Inkubationszeit beträgt durchschnittlich 20 Tage, die Dauer der unkomplizierten Erkrankung 9–14 Tage. Die Prognose ist in der Regel gut. Bei etwa 5% der Kranken folgt nach Monaten bis Jahren ein chronisches Q-Fieber, oft mit **Endokarditis,** die unerkannt meist letal endet.

Diagnostik und Therapie

Der Erregernachweis durch Kultur/ Tierversuch wird wegen des Infektionsrisikos selten durchgeführt. Die PCR ist routinemäßig noch nicht ver-

fügbar. Das Q-Fieber wird serologisch durch KBR, Mikroimmunfluoreszenz oder Mikroagglutination diagnostiziert. Im akuten Stadium erscheinen zuerst IgM-Antikörper gegen Phase II, bei chronischer Erkrankung treten Antikörper gegen Phase I auf. Differentialdiagnostisch ist vor allem an *C. pneumoniae*, Ornithose, *M. pneumoniae* und Viruspneumonien zu denken.
Wie bei allen Rickettsiosen sind Tetrazykline gut wirksam.

Epidemiologie

C. burnetii ist hoch kontagiös (≤ 10 Keime). Der Mensch infiziert sich unter normalen Umständen aerogen über Haustiere, selten durch Milch. Symptomlos erkrankte Rinder, Schafe oder Ziegen scheiden die Erreger in großer Zahl mit Kot, Urin, Milch und anderen Exkreten aus, vor allem nach Aborten. Auch Katzen oder Hunde können die Ursache einer menschlichen Infektion sein. *C. burnetii* bleibt in den getrockneten Materialien monatelang infektiös. Der Mensch infiziert sich durch Einatmen des erregerhaltigen Staubes, z.B. aus infizierter Wolle; ein direkter Kontakt zu Tieren ist daher nicht notwendig. Die Übertragung von Mensch zu Mensch ist selten. Zwischen den Tieren wird der Erreger außer durch Exkrete auch durch Zecken übertragen. Q-Fieber tritt weltweit auf, auch in Deutschland werden sporadische Fälle oder Epidemien beobachtet. Die Erkrankung hinterläßt eine langdauernde Immunität.
Der direkte oder indirekte Nachweis von *Coxiella burnetii* ist nach dem Infektionsschutzgesetz **meldepflichtig**.

4.26.7 Die Gattung Chlamydia

Definition und Systematik

Chlamydien (griechisch chlamys = Mantel) sind obligat intrazellulär wachsende Bakterien mit einer Genomgröße von ca. 1,2 Mb. Ihre Zuordnung zu den *Proteobacteria* ist unklar. Das kürzlich sequenzierte Genom von *C. trachomatis* enthält 1,04 Mb und codiert für 894 Proteine. Die Sequenz zeigt Verwandtschaft zu den Mitochondrien, außerdem wurden offenbar mehrere Gene aus Eukaryoten aufgenommen. Die drei menschenpathogenen Arten *Chlamydia psittaci, C. trachomatis* und *C. pneumoniae* unterscheiden sich in der Form ihrer Einschlüsse und ihrem Glykogengehalt (*C. trachomatis* +) sowie den befallenen Wirtsorganen. In ihren DNA-Sequenzen differieren sie erheblich (< 10–30% Homologie), die 16S rRNA ist dagegen sehr ähnlich (ca. 5% Differenz). Die Spezies *C. trachomatis* wird in zahlreiche Serovare unterteilt, ebenso ist *C. psittaci* heterogen.

Morphologie und Vermehrung

Die Zellwand reagiert gram-negativ und enthält Lipopolysaccharid (LPS), ihr fehlt jedoch das typische Peptidoglykangerüst, obwohl die erforderlichen Gene vorhanden sind. Strukturgebendes Element sind statt dessen Proteine mit zahlreichen Disulfid-Brücken, vor allem ein Major Outer Membrane Protein (MOMP) von ca. 40 kDa. Der Vermehrungszyklus besteht aus zwei charakteristischen Zellformen, dem infektiösen Elementarkörperchen (EB) und dem vermehrungsfähigen Retikularkörperchen (RB) (Tab. 4.63).

Die EB heften sich vorzugsweise an die Mikrovilli der entsprechenden Wirtszellen an und werden unter Energieverbrauch aktiv aufgenommen. Die Fusion des Phagosoms mit den Lysosomen wird – außer in polymorphkernigen Neutrophilen – durch ein noch unbekanntes Signal verhindert. Innerhalb der nächsten 8–12 Std. (Abb. 4.70) wandeln sich die EB unter Verminderung der Disulfid-Brücken des MOMP vollständig in RB um, die auslösenden Faktoren sind unklar. Die Synthese von Chlamydia-Protein beginnt bereits nach 15 Minuten. Die RB vermehren sich durch ca. 10–12 aufeinanderfolgende Teilungen (≥ 1000 Tochterzellen). Gegen Ende der Teilungsphase wandeln sich die neuen RB unter Zystein-Verbrauch zu-

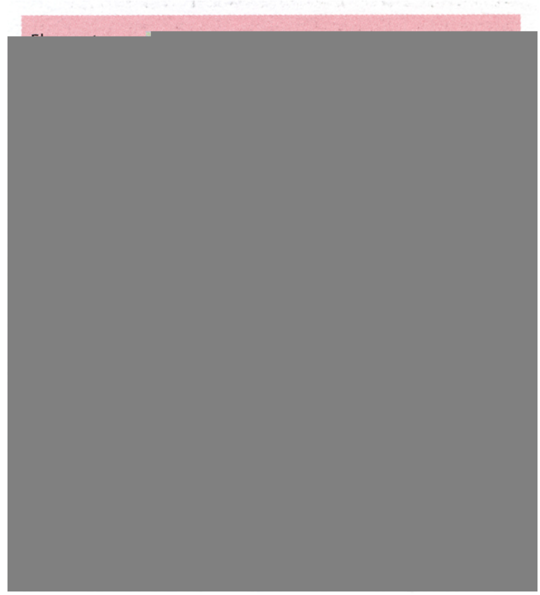


Abb. 4.70 Vermehrungszyklus von Chlamydien.

Merkmal	Elementarkörperchen	Retikularkörperchen
Größe	ca. 0,3 µm	1,0 µm
Ultrastruktur	dichter Kern rigide Zellwand	Innenstruktur aufgelockerte Zellwand
Metabolismus	inaktiv	aktiv
DNA:RNA	1:1	1:3
Vermehrung	nein	ja
Infektiosität	ja	nein

Tab. 4.63 Eigenschaften von Elementar- und Retikularkörperchen

nehmend wieder in EB um („Kondensation"). Zum Ende der Entwicklung (ca. 30 Std.) lysieren die Einschlüsse von *C. psittaci*, bei *C. trachomatis* können die Zellen länger intakt bleiben.
Chlamydien (Modell *C. trachomatis*) verfügen über die meisten Enzyme für die Synthese von Makromolekülen, kaum jedoch über solche für die Aminosäure-Biosynthese. Diese werden überwiegend aus der Wirtszelle aufgenommen. Auch die de novo-Synthese von Nucleotiden ist stark eingeschränkt. Chlamydien sind abhängig von zellulärem ATP („Energieparasitismus"), das sie mit Hilfe spezieller Translokasen durch

rung, durch immunologische Reaktionen gegen infizierte Zellen, intensive Zytokinbildung der befallenen Zellen sowie Folgereaktionen, z.B. Vernarbung. Besonders *C. trachomatis*, aber auch *C. pneumoniae* tendiert zu chronisch-persistierenden Infektionen.

Laboratoriumsdiagnostik

Die Erreger werden **mikroskopisch,** durch **Anti-**



Abb. 4.71 Einschlußkörperchen von *C. trachomatis* in McCoy-Zellen (Giemsa-Färbung). Aufnahme von H. Freidank, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Freiburg.

schlußkörperchen als Antigen, erfassen vorwiegend gattungsspezifische Antikörper und erlauben keine Aussage über die Infektion mit einer bestimmten *Chlamydia*-Art. Dies gilt auch für einen ELISA mit rekombinantem LPS. Derzeit steht als Standardverfahren für den Nachweis speziesspezifischer Antikörper nur der Mikroimmunfluoreszenztest (MIF) nach Wang zur Verfügung. Er verwendet EB der verschiedenen Spezies und Serovare als Antigen.

Therapie

Chlamydien verhalten sich im Prinzip wie andere Bakterien. Sie sind in vitro gegen eine Reihe von Antibiotika empfindlich, das intrazelluläre Wachstum schützt die Erreger jedoch vor der Einwirkung einiger Substanzen. Für die Therapie haben sich **Tetrazykline** und **Makrolide** als besonders geeignet erwiesen. Neuere Untersuchungen zeigen auch begrenzte klinische Wirksamkeit von Gyrase-Hemmern.

4.26.8 Chlamydia trachomatis

Die Stämme von *C. trachomatis* lassen sich aufgrund des Infektionsverhaltens und anderer Eigenschaften in drei Biovare einteilen: Trachom, Lymphogranuloma venereum (LGV) und Biovar Maus. Die beiden erstgenannten Biovare kommen ausschließlich beim Menschen vor. Sie verursachen so unterschiedliche Erkrankungen wie das **Trachom,** die **Einschlußkonjunktivitis, unspezifische Genitalinfekte** und das **Lymphogranuloma venereum**. Derzeit sind 15 Serovare bekannt, die für die jeweiligen Krankheiten charakteristisch zu sein scheinen.

Trachom

Die Erreger (Serotypen A–C) infizieren das Epithel der Bindehaut. Dem akut-entzündlichen Exsudat folgt die Bildung sogenannter **Follikel** aus Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen, meist am Oberlid. Komplikationen sind **narbige Deformierungen,** die **Vaskularisierung der Kornea** mit nachfolgender zelliger Infiltration (Bildung eines **Pannus)** und **Sekundärinfektionen.** Die **chronische Form** des Trachoms mit ihren Komplikationen tritt vor allem bei wiederholten Erkrankungen und einer starken zellulären Immunreaktion auf.
Klinisch ist das Trachom ist eine Keratokonjunktivitis, die nach akutem Beginn meist chronisch verläuft. Das manifeste Trachom mit hypertrophischen Follikeln und Papillen und beginnender Pannusbildung dauert Wochen bis Jahre, gefolgt von Erosionen der Kornea, narbigen Verziehungen der Lider und Trichiasis sowie Sekundärinfekten. Das abgeheilte Trachom zeigt keine infektiöse Aktivität, aber die Folgen der Narbenbildung bis hin zur Erblindung. Die Erkrankung hinterläßt eine nur typspezifische und kurz dauernde Immunität.
Die **Therapie** der individuellen Erkrankungen erfolgt mit Tetrazyklinen oder Makroliden. Die **Prophylaxe** besteht in der Verbesserung der hygienischen Verhältnisse und Therapiekampagnen zur Verminderung der Prävalenz.
Die **Epidemiologie** des Trachoms ist geprägt durch endemische Verbreitung besonders in Afrika, Südostasien und im Mittleren Osten. Die Zahl der Erkrankungen wird auf insgesamt mehrere hundert Millionen geschätzt, mit bis zu 5 Millionen Blinden ist es die häufigste Ursache der vermeidbaren Erblindung. Der Erreger wird besonders innerhalb der Familie übertragen. In Endemiegebieten erkranken vorwiegend kleine Kinder. Gelegentlich werden Trachomerreger auch aus dem Genitaltrakt isoliert.

Einschlußkonjunktivitis

Die Läsionen der Einschlußkonjunktivitis entstehen in der gleichen Weise wie beim Trachom. Meist ist das Unterlid befallen. Die Reaktionen

sind milder, schwere Veränderungen und Übergänge in ein chronisches Stadium sind selten. Reservoir ist der Genitaltrakt. Die typische Einschlußkonjunktivitis des **Neugeborenen** beginnt 1–2 Wochen nach der Geburt als schleimig-eitrige Konjunktivitis, die nach weiteren 1–2 Wochen abklingt und nach 2–3 Monaten erloschen ist. Erwachsene entwickeln häufiger das Bild einer langwierigen follikulären Konjunktivitis mit subepithelialer Infiltration der Kornea.
Die CREDÉsche Prophylaxe mit Silbernitrat beim Neugeborenen verhindert die Infektion nicht. Die „**Schwimmbadkonjunktivitis**“ ist durch verbesserte Bäderhygiene selten geworden.
Die Einschlußkonjunktivitis wird mit Tetrazyklinen, beim Neugeborenen lokal, beim Erwachsenen systemisch, erfolgreich behandelt.

Genitalinfektionen

Männlicher Genitaltrakt. *C. trachomatis* ist mit ca. 20–40% der häufigste Erreger der **nicht-gonorrhoischen Urethritis** oder – bei etwa 10–30% der Gonorrhoe-Patienten – der **postgonorrhoischen Urethritis**. Meist besteht eine Dysurie mit Urethralbeschwerden und spärlichem mukösem bis mukopurulentem Ausfluß. Mikroskopisch finden sich > 5% Leukozyten pro Gesichtsfeld (1000fach). Die Beschwerden beginnen 1–2 Wochen nach Sexualkontakt und können über Wochen und Monate andauern. Bis zu 30% der Infektionen bleiben symptomlos. Häufigste Komplikation ist eine akute **Epididymitis.**
Weiblicher Genitaltrakt. Die Infektionen verlaufen überwiegend symptomlos oder symptomarm (bis zu 80%). Häufigste Erkrankung des unteren Genitaltraktes ist die **mukopurulente Zervizitis**. Bis zu 50% der Frauen mit Gonorrhoe sind gleichzeitig mit *C. trachomatis* infiziert. Die Infektion kann sich auf die Harnwege ausbreiten und das sogenannten **Urethralsyndrom** der Frau mit häufigem und schmerzhaften Harndrang verursachen. Aufsteigende Infektionen leiten über zu **Endometritis**, zu **Salpingitis** und selten zu einer **Perihepatitis**. Rezidivierende Infektionen führen durch Tubenverschluß zu **Extrauteringravidität** und zur **Infertilität**. Bei beiden Geschlechtern kann eine uncharakteristische Proktitis auftreten.

Sonstige Erkrankungen

Neugeborenen-Pneumonie. Kinder von *C. trachomatis*-infizierten Müttern (ca. 5% der Schwangeren) können nach 2–4 Wochen an einer langwierigen **afebrilen Pneumonie** erkranken (Häufigkeit ≤ 5 auf 1000 Geburten). Bei meist geringer klinischer Symptomatik zeigt das Röntgenbild ausgedehnte Verschattungen. Die Erkrankung dauert unbehandelt mehrere Wochen und heilt meist folgenlos aus.
Reaktive Arthritis. Vor allem Männer mit nichtgonorrhoischer Urethritis (ca. 1%) entwickeln nach ca. 4 Wochen Zeichen einer reaktiven Arthritis einzelner Gelenke, Patienten mit HLA-B27 sind vermehrt betroffen. Bis zur Hälfte dieser Patienten leidet an einem REITER-Syndrom (Arthritis, Konjunktivitis, Urethritis).

Epidemiologie

Infektionen mit *C. trachomatis* sind weltweit die häufigste sexuell übertragene Krankheit. Reservoir der Serovare D–K ist der menschliche Genitaltrakt. Vor allem die persistierenden asymptomatischen Infektionen bei Mann und Frau erhalten die Infektionskette. Die Übertragung erfolgt durch Sexualkontakt und – bei den Augenerkrankungen – durch Schmierinfektion sowie beim Passieren des Geburtskanals. Die Häufigkeit der genitalen Besiedlung ist abhängig von Alter, sexueller Aktivität und sozioökonomischen Verhältnissen. Die Prävalenz klinisch Gesunder liegt um 1–2% bei Männern und 3–5% bei Frauen. Die Infektion hinterläßt offenbar nur eine kurzfristige serotyp-spezifische Immunität.
Für die **Diagnose** siehe Tab. 4.64. Bei den Genitalinfekten steht der Erregernachweis im Vordergrund. Die **Therapie** erfolgt bei Nachweis der Erreger mit Tetrazyklinen oder Makroliden über mindestens 10 Tage, bei unkomplizierter Infektion ist auch die Einmalgabe von Azithromycin erfolgreich. Mit einer gleichzeitigen Partnerbehandlung können direkte Reinfektionen („Ping-Pong“-Infektionen) vermieden werden.

Lymphogranuloma venereum

Das Lymphogranuloma venereum (LGV) wird durch Serovare mit größerer Invasivität (L1–L3) hervorgerufen, dabei gelangen die Erreger auch in die regionären Lymphknoten.
Am Ort der Infektion, meist im Genitalbereich, entstehen nach 5–20 Tagen als **Primärläsion** kleine Papeln, die sich zu kleinen, meist schmerzlosen oberflächlichen Geschwüren weiterent-

Tab. 4.64 Diagnostik bei *C. trachomatis*-Infektionen

Erkrankung	Serovare	Untersuchungsmaterial	Erregernachweis durch				Serologie[6]	
			Mikr.	DIF/EIA	LCR/PCR	Kultur	MIF[1]	KBR[2]
Trachom	A–C	Bindehautabstrich	+	++	(+)	+	–	–
Einschluß-konjunktivitis	D–K	Bindehautabstrich	+	++	(+)	+	–	–
Genitalinfekte, Urethral-Syndrom	D–K	Abstrich von Urethra/ Zervix; Urinsediment[3]	–	++	++	+	(+)[4]	–
Neugeborenen-pneumonie	D–K	Rachenabstrich, Trachealsekret	–	++	+	+	+	(+)
reaktive Arthritis	D–K	Genitalabstrich[5]	–	(+)	(+)	+	(+)	
LGV	L_1–L_3	Abstrich v. Läsion, Lymphknoten-Eiter	–	++	+	+	+	–

DIF = Immunfluoreszenz-Erregernachweis, EIA=Enzymimmunassay, LCR=Ligase-Kettenreaktion,
MIF = Mikroimmunfluoreszenztest, KBR=Komplementbindungsreaktion, LGV=Lymphogranuloma venereum

[1]) und sonstige speziesspezifische Verfahren
[2]) und sonstige gattungsspezifische Verfahren
[3]) nur LCR
[4]) nur chronische Infekte
[5]) für Nachweis der vermuteten primären Infektion
[6]) Untersuchungsmaterial Serum

wickeln. Seltene extragenitale Lokalisationen finden sich im Analbereich oder an den Fingern. Ein bis acht Wochen nach Ausheilen der Primärläsion treten schmerzhafte Schwellungen der regionalen **Lymphknoten** auf, die einschmelzen und nach außen durchbrechen können. Bei mehr granulomatöser Entzündung folgt bindegewebige Vernarbung mit **Elephantiasis** von Skrotum, Penis oder Vulva, oder mit **Strikturen** und **Fisteln** im Rektum.
Zur **Diagnose** siehe Tabelle 4.64. **Therapie** ist durch Tetrazykline und Makrolide.
Erregerreservoir ist der Genitaltrakt des Menschen, die Übertragung erfolgt fast ausschließlich durch sexuellen Kontakt. Die Erkrankung ist meist in Gebieten mit schlechten hygienischen und sozioökonomischen Verhältnissen sowie in Bevölkerungsgruppen mit hoher Promiskuität verbreitet.

4.26.9 Chlamydia psittaci

Pathogenese

Die Erreger der **Ornithose,** einer **Zoonose,** werden inhaliert, vermehren sich in den Zellen des RES und führen dann zur Organmanifestation, meist in der Lunge. Das alveoläre und interstitielle Infiltrat enthält nach der akuten Phase überwiegend Lymphozyten. Nicht selten sind auch andere Organe (Milz, Leber, Meningen) befallen.

Klinik

Nach einer Inkubationszeit von 1–3 Wochen beginnt das Bild einer **„atypischen“ Pneumonie** mit Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen und einem oft wenig produktiven Husten. Alle Schweregrade sind möglich. Die Letaliät betrug bei symptomatischen unbehandelten Fällen früher bis zu 30%. Die Erkrankung kann mehrere Wochen dauern. Die klinische Symptomatik greift gelegentlich auch auf andere Organsysteme über (z.B. Leber, ZNS).

Diagnostik und Therapie

Wichtig ist die Anamnese (Vogelkontakt!). Der Erregernachweis durch Anzüchtung in der Zellkultur oder direkt mit Antigentests ist möglich, wird wegen der **hohen Infektiosität** jedoch selten angewendet. Die Diagnose wird in der Regel durch Serologie, meist durch die KBR mit Gattungsantigen gestellt. Eine Abgrenzung zu *C. pneumoniae*-Infektionen ist nur mit speziesspezifischen Tests möglich.

Die **Therapie** erfolgt mit Tetrazyklinen (mindestens 2–3 Wochen).

Epidemiologie

C. psittaci ist bei Vögeln und anderen Tierarten weltweit verbreitet. Infektionsquelle des Menschen sind vor allem **papageienartige Vögel**, aber auch andere Vogelarten (z.B. Geflügel), seltener sonstige Tierarten. Die Erkrankung verläuft häufig symptomarm, die Erreger werden mit Kot und Sekreten manchmal jahrelang ausgeschieden, die austrocknungsresistenten EB werden von Menschen mit dem Staub eingeatmet. Gefährdet sind vor allem Personen mit beruflichem Vogelkontakt. Eine Übertragung

generkrankungen sowie reaktive Arthritis beschrieben. In letzter Zeit wird eine Beteiligung von *C. pneumoniae* an der Pathogenese der Arterio- und Koronarsklerose diskutiert.

Diagnostik und Therapie

Klinisch ist eine Abgrenzung von gleichartigen Bildern anderer Ätiologie nicht möglich. Der **Erregernachweis** durch Zellkultur ist schwierig, ebenso sind Antigennachweise, Gensonden und PCR noch nicht standardisiert. Die Diagnose wird derzeit meist serologisch gestellt. Bei der Erstinfektion erscheinen nach etwa 3 Wochen artspezifische IgM-Antikörper, die „Ornithose"-Komplementbindungsreaktion mit gat-

sis of *Chlamydia trachomatis* infections. Clin. Microbiol. Rev. 10 (1997)160–184

COLLIER, L., A. BALOWS and M. SUSSMAN (Eds.): Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Vol. 2 und 3, Arnold London 1997

FERRARO, M. J., and P. H. GILLIGAN (Eds.): Chlamydia, Rickettsia and related bacteria. In MURRAY, P. R. et al. (Eds.): Manual of Clinical Microbiology, 6th Ed., ASM Press, Washington D.C. 1995

FOURNIER, B.-E., T. J. MARRIE, and D. RAOULT: Diagnosis of Q-fever. J. Clin. Microbiol. 36 (1998) 1823–1834

GNARPE, J., G. FRIMAN, and P. SAIKKU (Eds.): *Chlamydia pneumoniae.* Scand. J. Infect. Dis. Suppl., 104 (1997)1–56

KAUPPINEN, M., and P. SAIKKU: Pneumoniae due to *Chlamydia pneumoniae:* prevalence, clinical features, diagnosis and treatment. Clin. Infect. Dis. 21, Suppl.3 (1995) 244–252

MARRIE, T.J.: Coxiella burnetii (Q-fever) pneumonia. Clin. Inf. Dis. 21, Suppl. 3, (1995) 253–264

MOULDER, W.J.: Interaction of chlamydia and host cells in vitro. Microbiol. Rev. 55 (1991) 143–190

OGDEN, N.H., Z. WOLDEHIWET and C.A. HART: Granulocytic ehrlichiosis: an emerging or rediscovered tick-borne disease? J. Med. Microbiol. 47 (1998) 475–482

POPOV, V. L., V. C. HAN, S.-M. CHEN et al.: Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus Ehrlichia. J. Med. Microbiol. 47(1998) 235–251

RAOULT, D., and V. ROUX: Rickettioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. Clin. Microbiol. Rev. 10 (1997) 694–719

SCHMEER, N., H. KRAUSS und H. G. SCHIEFER: Q-Fieber. Dtsch. Med. Wschr. 112 (1987) 184–188

WALKER, D.H., and J. S. DUMLER: Emergence of the Ehrlichiose as human health problem. Emerging Inf. Dis. 2 (1996) 18–29

4.27 Die Gattung Bartonella

WOLFGANG BREDT

Die früher zu den Rickettsien gehörenden Gattung *Rochalimea* ist inzwischen aufgrund molekulargenetischer Untersuchungen und nach Entdeckung weiterer Arten der Gattung *Bartonella* zugeordnet worden. Phylogenetisch sind die Bartonellen den Brucellen verwandt. Bisher sind im wesentlichen drei Arten als menschenpathogen bekannt (Tab. 4.65 und 4.66). Daneben wurden *B. elizabethae* einmal von einem Patienten isoliert und *B. clarridgeiae* zweimal serologisch diagnostiziert. Im Gegensatz zu den Rickettsien können sich Bartonellen extrazellulär vermehren.

4.27.1 Eigenschaften der Erreger

Bartonellen sind kleine, gram-negative Stäbchen (0,6 x 1 µm), oxidasenegativ, aerob, anspruchsvoll und langsam wachsend. Ihr Genom ist 1,7–2,2 Mb groß. Sie benötigen Hämin, auf Kochblut- oder Blutagar erscheinen sie in kleinen weißlichen, zunächst häufig erst rauhen Kolonien. Bei primärer Isolierung wachsen sie langsam, mindestens 7–20 Tage, Subkulturen benötigen dann nur noch 3–5 Tage. Zucker werden nicht abgebaut, eine Differenzierung auf Gattungsebene ist mit kommerziellen Anaeroben-Systemen möglich. Eine sichere Differenzierung von *B. henselae* und *B. quintana* auf Speziesebene benötigt PCR-Verfahren, die auch für Subtypisierungen geeignet sind (Tab. 4.65)

4.27.2 Epidemiologie

Die drei wichtigsten menschenpathogenen Bartonella-Arten werden auf unterschiedliche Weise übertragen (Tab. 4.66). Anders als bei *R. prowazekii* werden die mit *B. quintana* infizierten Kleiderläuse nicht geschädigt, sie bleiben lebenslang infiziert und scheiden den Erreger mit dem Kot aus. Offenbar kann *B. quintana* in allen oder einem Teil der erkrankten Menschen persistieren. Art und Umfang des Reservoirs sind weitgehend unbekannt. *B. henselae* verursacht rezidivierende und persistierende Infektionen besonders bei jungen Katzen, der Katzenfloh

Tab. 4.65 Eigenschaften verschiedener *Bartonella*-Arten

Eigenschaft	*B. bacilliformis*	*B. quintana*	*B. henselae*
Flagellen*	+	–	–
Pili	–	+	+
Wachstum bei 5% CO_2	–	+	+
optimale Temperatur	28–32 °C	34–37 °C	34–37 °C

**B. clarridgeiae* ist ebenfalls begeißelt

4

mehrfach Fälle bei Obdachlosen, Alkoholikern und anderen Vorgeschädigten gefunden. Bei Übergang in eine chronische Infektion kann eine Endokarditis entstehen.
Die **Diagnose** wird selten durch Blutkultur oder PCR, meist durch Antikörpernachweis gestellt. In der **Therapie** werden Aminopenicilline, Tetracycline und Makrolide eingesetzt, bei Bakteriämien und Endokarditis werden auch Cephalosporine der 3. Generation und Aminoglykoside kombiniert.

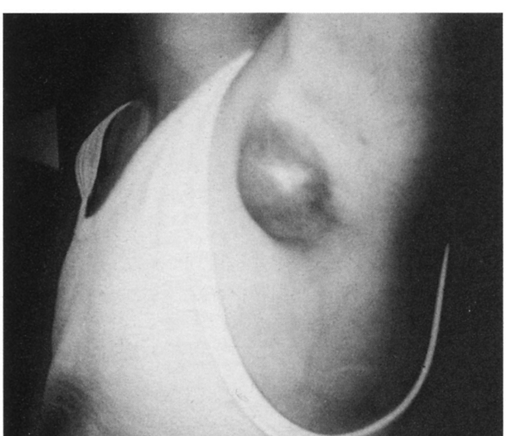
Katzenkratzkrankheit (KKK)

B. henselae verursacht bei Immungesunden die KKK: Eine Woche nach Katzenkontakt entsteht an der Verletzungsstelle eine Papel/ Pustel mit nachfolgender regionaler Lymphadenitis, häufig begleitet von Fieber (Abb. 4.72). Die oft sehr großen Lymphknoten können eitrig einschmelzen. Seltenere Formen sind eine granulomatöse Konjunktivitis (PARINAUD-Syndrom), Neuroretinitis, Hepatitis und neurologische Symptomatik/Enzephalopathie. Meist heilt die KKK nach mehreren Monaten spontan aus. Aus bisher einem Fall wurde eine weitere Art, *B. clarridgeiae* isoliert. *Afipia felis* spielt nach derzeitiger Kenntnis als Erreger der KKK keine wesentliche Rolle. Außer der KKK kann *B. henselae* auch ähnlich *B. quintana* Bakteriämien und Endokarditis verursachen. Bei einem ähnlichen Fall wurde einmal *B. elizabethae* isoliert.

Wichtig für die **Diagnose** ist zunächst die Anamnese (Katzenkontakt!). Der Verdacht wird gesichert durch Lymphknotenbiopsien für PCR und Histologie, meist jedoch durch den Antikörpernachweis im Immunfluoreszenztest, der bisher am besten standardisiert ist.
Eine **Therapie** ist in der Regel nicht erforderlich und bei unkomplizierten Fällen auch meist nicht wirkungsvoll. Klinische Besserungen wurden nach Makroliden, Tetrazyklinen, Cotrimoxazol, Rifampicin und Gentamicin gesehen.

Bazilläre Angiomatose und Peliosis hepatis

In AIDS-Patienten, seltener bei anderen Immundefizienten, können *B. quintana* und *B. henselae* durch Angioneogenese typische Hautveränderungen hervorrufen, die Bazilläre Angiomatose (BA): rötlich-braune Papeln oder Knötchen, größere, meist druckempfindliche subkutane Knoten, die ulzerieren können, oder flächige Bereiche über Knochenläsionen. Die Hautläsionen können von Fieber, Schüttelfrost und sonstigen Allgemeinsymptomen begleitet werden. Prinzipiell können alle Organe mitbefallen sein, neben einer Osteolyse sind dies besonders häufig die Peliosis hepatis mit angiomatösen Herden in der Leber, Hepatosplenomegalie und Allgemeinsymptomatik. Weitere Komplikationen sind Neuroretinitis, aseptische Meningitis und proliferative Läsionen im ZNS.
Die **Diagnose** wird bei bekannter Grunderkran-



Allgemeine Virologie

5

5.1 Menschenpathogene Viren – Allgemeiner Teil

HANS J. EGGERS

5.1.1 Historische Herleitung des Virusbegriffs

Viren sind eine eigenständige Gruppe von Infektionserregern, die sich in ihrem Aufbau und ihrem Vermehrungsmodus grundsätzlich von den Mikroorganismen unterscheiden.

Der lateinische Terminus „Virus" (Neutrum, gewöhnlich nur im Nominativ und Akkusativ, Singular) bedeutet allgemein eine schleimige Aussonderung von Pflanzen oder Tieren, speziell: Gift. Er stammt wahrscheinlich aus Sanskrit: visam = Gift.

Der Begriff ging in die medizinische Literatur ein und wurde im Sinne von Jauche, Gift, Miasma oder Contagium verwendet, in der Mikrobiologie bis auch in die jüngere Zeit für Infektionserreger, gleich, ob es sich um Bakterien oder Viren im heutigen Sinne handelte.
1897 verwendeten LOEFFLER und FROSCH die Bezeichnung Virus für eine besondere Art von Infektionserregern: Auf der Suche nach dem Erreger der Maul- und Klauenseuche fanden sie, daß dieses Agens durch bakteriendichte Filter nicht zurückgehalten wurde („ultrafiltrierbar"), im Lichtmikroskop nicht sichtbar war („ultravisibel") und auf allen bekannten Bakteriennährböden nicht angezüchtet werden konnte („unzüchtbar").

5.1.2 Definition des Virus: Viren sind

Viren vermehren sich nicht durch Wachstum und anschließende Teilung. Die Synthesemaschinerie der infizierten Zelle produziert bzw. modifiziert auf Anweisung der genetischen Information des Virus die einzelnen Virusbestandteile in verschiedenen „Zellkompartimenten". Anschließend werden die Einzelbestandteile zum kompletten Viruspartikel (Virion) zusammengebaut.

Aufgrund dieser Eigenschaften ergibt sich die obligat intrazelluläre Vermehrung der Viren.
Mit den Fortschritten der Molekularbiologie wurde allerdings eine zellfreie Morphogenese infektiöser Viruspartikel (z.B. von Bakteriophagen) aus Virus-Strukturkomponenten möglich, die zuvor aus infizierten Zellen isoliert worden waren. Darüber hinaus gelang 1991 eine zellfreie de novo Synthese von Poliovirus in einem Extrakt uninfizierter menschlicher Zellen mit Poliovirus-RNA als genetischer Information. Dieser wichtige Schritt der In-vitro-Synthese einer selbst-replizierenden Entität unter artifiziellen, experimentellen Bedingungen ändert natürlich nichts an der prinzipiellen Aussage, daß die Vermehrung der Viren obligat intrazellulär erfolgt.
Chlamydien und Rickettsien, die, wie sogar die Mykoplasmen, zeitweise zu den Viren gerechnet wurden, erfüllen die Kriterien eines Virus nicht. Sie werden heute als Bakterien angesehen, weil sie sowohl DNA als auch RNA enthalten, eine eigene Proteinsynthese durchführen können und sich durch Zweiteilung vermehren.
Tab. 5.1 gibt einen vergleichenden Überblick über die wichtigsten Unterschiede zwischen Viren und Mikroorganismen.

Prinzipiell besteht ein Virion aus der die geneti-
sche Information tragenden Nukleinsäure, die



Nukleinsäure und Kapsid bilden zusammen das **Nukleokapsid.** Dieses ist entweder nackt oder bei anderen Virusarten noch von einer zusätzlichen Außenhülle, dem **Envelope** (englisch: Decke, Hülle) umgeben. Das Virus-Envelope besteht aus Lipiden, Proteinen und Kohlenhydraten und ist abgeleitet von der zellulären Plasmamembran oder Membranen zytoplasmatischer Organellen. Es wird während der Freisetzung des Nukleokapsids aus der infizierten Zelle durch einen als „budding" oder *Knospung* bezeichneten Prozeß gebildet. Die Zusammensetzung der Lipide des Envelopes ist für die infizierte Ursprungszelle charakteristisch. Die zellulären Proteine der ursprünglichen Zellmembran aber sind durch virusspezifische Glykoproteine ersetzt *(„Spikes"* oder *Peplomere),* die in elektronenmikroskopischen Aufnahmen als Projektionen des Envelopes unterschiedlicher Morphologie deutlich erkennbar sind (z.B. Abb. 5.7f und g, Kap. 6.10, Abb.6.27 und Abb. 5.6). Auf der Innenseite des Envelopes einiger Viren findet sich ein virusspezifisches Matrix-(M) Protein, das neben Funktionen beim „budding" des Virus der Struktur der Virionen zusätzliche Stabilität verleiht (z.B. Influenzaviren). Das von dem Envelope umgebene Nukleokapsid kann eine ikosaedrische (Beispiel Herpesviren) oder helikale (Beispiel Paramyxoviren) Symmetrie aufweisen. Im letzten Fall ist das filamentöse Nukleokapsid im Inneren des Envelopes aufgeknäuelt. Abb. 5.6 gibt einen schematischen Überblick über diese Bauprinzipien.
Wird von der Symmetrie eines Virus gesprochen, so bezieht sich diese Aussage auf die Struktur des Kapsids, auch wenn das Virus zusätzlich ein Envelope aufweist.
Manche Viren haben eine etwas abweichende,

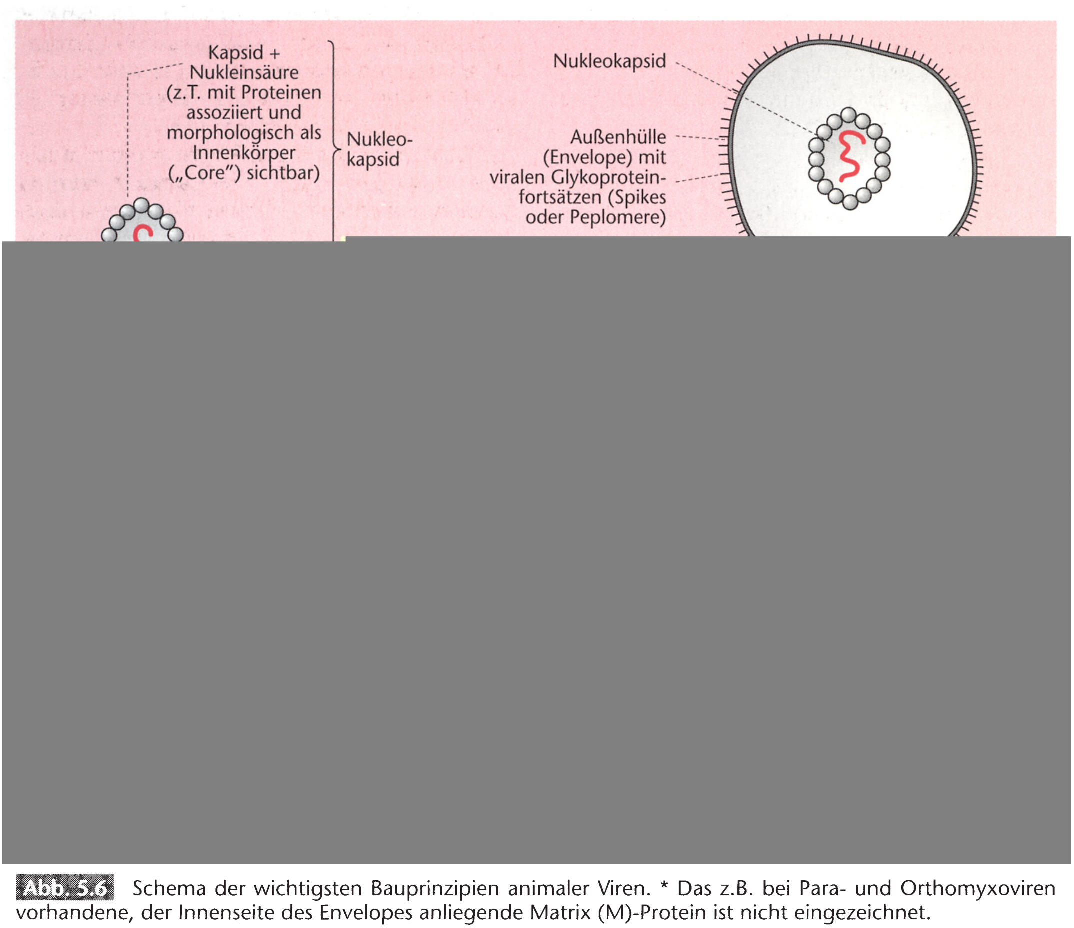


Abb. 5.6 Schema der wichtigsten Bauprinzipien animaler Viren. * Das z.B. bei Para- und Orthomyxoviren vorhandene, der Innenseite des Envelopes anliegende Matrix (M)-Protein ist nicht eingezeichnet.

komplexere Struktur. Bei einigen (Beispiel Pockenviren) umgeben mehrere Hüllen die Nukleinsäure, wobei ein eigentliches Kapsid nicht klar erkennbar ist. Andere (Beispiel: geradzahlige T-Coliphagen) weisen neben einer ikosaedralen Komponente (Kopf) noch eine helikale Struktur (Schwanz) auf.
Einen anschaulichen Eindruck vom Aussehen einiger Viren vermittelt Abb. 5.7a–n.

Chemische Zusammensetzung

Methoden zur Virusreinigung

Bevor die Zusammensetzung eines Virus analysiert werden kann, ist es nötig, eine genügend

konstante, sondern nach ihrer unterschiedlichen Schwebedichte. Die Methode ist so empfindlich, daß noch Teilchen mit verschiedenem Nukleinsäuregehalt oder Nukleinsäuren verschiedener Konformation oder Basenzusammensetzung voneinander getrennt werden können.

Durch solche Verfahren, die oft noch mit anderen, oben genannten Techniken (Chromatographie, serologische Methoden usw.) kombiniert werden, erhält man weitgehend gereinigte Viruspräparationen. Einen ersten Anhalt über den Reinheitsgrad kann man durch eine elektronenmikroskopische Aufnahme gewinnen.

Zusammensetzung der Viren



5.1.4 Einteilung der Viren

Eine Klassifikation und einheitliche Nomenklatur sind allein schon zum Zweck gegenseitiger Verständigung eine praktische Notwendigkeit, und dies gilt auch für die Viren. Entsprechend ist immer wieder versucht worden, die Viren nach den verschiedensten Gesichtspunkten zu klassifizieren. Solche Gesichtspunkte waren z.B. das Wirtsspektrum (Bakterien-, Pflanzen-, Insekten- und Vertebratenviren), der Gewebstropismus (neurotrope, respiratorische usw. Viren) und der Übertragungsmodus (z.B. arthropodborne viruses [Arbo-Viren] für solche Viren, die durch Arthropoden als Vektor übertragen werden). Aufgrund solcher biologischen Kriterien ist aber ein stimmiges System nicht zu erreichen. Der Gewebstropismus – um nur ein Beispiel zu nennen – ist sehr variabel und vieldeutig. Poliovirus ist als Enterovirus zweifellos „enterotrop", was epidemiologisch von größter Bedeutung ist. Den Arzt aber interessiert der „Neurotropismus", ein im Vergleich zur Zahl der Infizierten seltener „Unfall" (ca. 1:100). Patienten mit einer Poliomyelitis leiden außerdem häufig an einer Poliomyokarditis.
Seit den frühen sechziger Jahren wurden dann zur Einteilung folgerichtig vorwiegend physikochemische Kriterien herangezogen (Art der Nukleinsäure, nackt oder umhüllt, Symmetrieform

Inzwischen sind die Vorschläge des „International Committee on Taxonomy of Viruses" (ICTV) allgemein akzeptiert, zumal jeweils Experten aus aller Welt das entsprechende Fachgebiet bearbeiten. Das System operiert auf den hierarchischen Ebenen „Familie", „Genus" und „Spezies". Auch niedere Ebenen wie „Stamm", „Variante" etc. sind u.U. berücksichtigt. Der siebente Bericht des ICTV wurde im Herbst 2000 publiziert.
Die Virus-Familien bezeichnenden Termini enden auf *-viridae*. Die Gruppierung in Familien erscheint stabil und repräsentiert offenbar evolutionäre Verwandtschaft. So erscheint es unwahrscheinlich, daß die verschiedenen Charakteristika (Struktur und Replikation) der Orthomyxoviridae nicht einen gemeinsamen evolutionären Ursprung hätten und z.B. enger mit den Poxviridae verwandt wären.
Auch die Virus-„Genera" als Untergruppen der Familien scheinen wohl etabliert. Schwieriger für die Virologen ist die Definition des Terminus „Spezies", der niedersten taxonomischen Klasse. Das Spezieskonzept anderer taxonomischer Systeme, z.B. das für Tiere, ist hier nicht anwendbar. Die jüngsten, theoretisch interessanten Definitionen sind in der Praxis nur begrenzt hilfreich. Bislang werden die einzelnen Viren und Virusstämme nach verschiedenen Kriterien pragmatisch (z.B. strukturell, serologisch, geno-

Tab. 5.2 Wichtige Familien humanpathogener DNA-Viren

<table>
<tr><th>Nukleinsäure</th><th colspan="6">DNA</th></tr>
<tr><td>Symmetrieform</td><td colspan="5">kubisch</td><td>komplex</td></tr>
<tr><td>Virion nackt oder umhüllt</td><td colspan="3">nackt</td><td>umhüllt</td><td>umhüllt</td><td>komplexe Hülle</td></tr>
<tr><td>Bildungsort des Kapsids</td><td colspan="3">Kern</td><td>Zytoplasma</td><td>Kern</td><td>Zytoplasma</td></tr>
<tr><td>Ort der Umhüllung</td><td></td><td></td><td></td><td>Zytoplasma</td><td>Kern-membran</td><td>Zytoplasma</td></tr>
<tr><td>Ätherresistenz</td><td colspan="3">resistent</td><td>empfindlich</td><td>empfindlich</td><td>resistent</td></tr>
<tr><td>Anzahl der Kapsomere</td><td>32</td><td>72</td><td>252</td><td>–</td><td>162</td><td></td></tr>
<tr><td>Durchmesser des Virions (nm)</td><td>18–26</td><td>45–55</td><td>70–90</td><td>40–50</td><td>150–200</td><td>140–260 × 220–450 (quaderförmig oder oval)</td></tr>
<tr><td>Größe des Virusgenoms (gesamt) in kbp [ds] oder in kb [ss]</td><td>4–6</td><td>5,1–8,4</td><td>36–38</td><td>3,0–3,3</td><td>125–240</td><td>130–250</td></tr>
<tr><td>Virusfamilie</td><td>Parvoviridae (einsträngige DNA)</td><td>Papillomaviridae und Polyomaviridae</td><td>Adenoviridae</td><td>Hepadnaviridae</td><td>Herpesviridae</td><td>Poxviridae</td></tr>
</table>

viridae zusammengefaßt, eine Bezeichnung, die aus der Abkürzung des Namens dreier Vertreter dieser Familie, des *Pa*pillomavirus, des *Po*lyomavirus und des *Va*cuolatingvirus der Affen (simian virus 40 [SV40]) resultiert.

Papillomviren induzieren primär gutartige Tumoren der Haut und Schleimhäute ihrer natürlichen Wirte. So gehören zu dieser Familie die Warzenviren von Mensch und Tierspezies. Zur Zeit differenziert man mehr als 80 Genotypen humanpathogener Papillomviren. Heute kann kaum noch bezweifelt werden, daß zwischen Infektionen mit bestimmten Typen von Papillomviren des Menschen (z.B. Typen 16 und 18) und der Entstehung eines Zervixkarzinoms kausale Beziehungen bestehen, auch wenn weitere Kofaktoren (z.B. Rauchen) notwendig sind.

Das zu den Polyomaviridae gehörende JC-Virus (humanes Polyomavirus) gilt als Erreger der progressiven, multifokalen Leukoenzephalopathie.

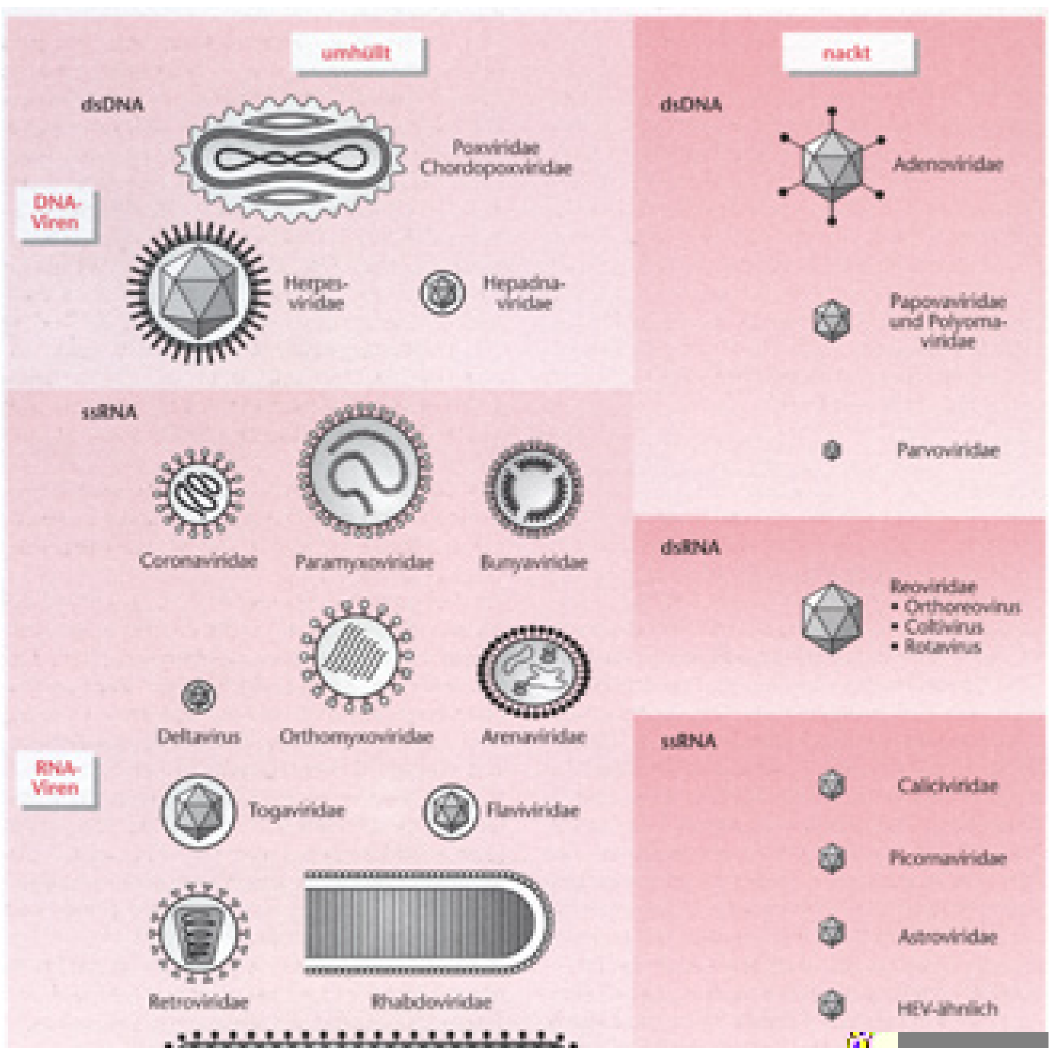
SV 40, ebenfalls ein Polyomavirus, kommt offenbar inapparent in den Zellen von Rhesusaffen vor. Das Virus kann Zellen verschiedener Spezies, darunter auch des Menschen, transformieren (s. Kap. 5.1.8 u. 11.13.2). Bei neugeborenen Hamstern erzeugt es unter experimentellen Bedingungen bösartige Tumoren. Es ist eines der am besten untersuchten onkogenen Viren. Da die inaktivierte Poliovakzine (Salk) unabsichtlich mit SV 40 kontaminiert war, bestand lange Zeit die Sorge einer onkogenen Wirkung dieses Impfstoffs. Langzeituntersuchungen lassen diese Befürchtung inzwischen unbegründet erscheinen.

Adenoviridae

Adenoviren wurden erstmals als Zufallsbefund aus adenoiden Geweben des Menschen isoliert. Es existieren mindestens 50 serologisch verschiedene Adenovirustypen des Menschen, die z.T. – wiederum unter experimentellen Bedin-

gungen – Tumoren in neugeborenen Hamstern hervorrufen und in vitro Hamster- und Rattenfibroblasten transformieren können. Es gibt aber bislang keinen Anhalt dafür, daß Adenoviren bei der Entstehung von Tumoren des Menschen beteiligt sind. Klassische Krankheitsbilder sind die epidemische Keratokonjunktivitis, verschie-

Hepadnaviridae
Humanpathogener Vertreter ist das Hepatitis B (s.a. Tab. 5.2 u. Abb. 5.9) Virus (HBV). Tierpathogene Hepadnaviren (Waldmurmeltiere [„woodchucks"], Enten *[Anas domesticus]*) dienen als wertvolle Modelle zur Erforschung der Pathogenese der akuten und chronischen Hepa-




komplex
komplex
umhüllt
umhüllt
Zyto-plasma
Zyto-plasma
empfind-lich
empfind-lich
50
9–13
10–12
00–1000
(...förmig)
120–160
80–120
80–130
50–300
–19,1
27–31
11–19
7–11
10–14
viridae
Corona-viridae
Bunya-viridae
Retro-viridae
Arena-viridae

Erreger der Hepatitis E (HEV) wurde zunächst nach morphologischen Kriterien den Caliciviridae zugerechnet. Aufgrund phylogenetischer Nukleotidsequenzanalyse ist er eher mit den Rubiviren verwandt; ergo ist das Virus zur Zeit nicht sicher klassifiziert. HEV kann schwere Trinkwasser-assoziierte Hepatitis-Epidemien hervorrufen.

Astroviridae
Sie wurden ebenfalls als Erreger von Brechdurchfällen durch direkten elektronenmikroskopischen Nachweis entdeckt. Das sternförmige Bild gab den kleinen (+)-Strang-Viren den Namen (s. Abb. 6.24).

Reoviridae
Diese ursprünglich als *R*espir*e*nter*o*viren von den ECHOviren abgetrennte Gruppe zeichnet sich dadurch aus, daß ihre Mitglieder eine doppelsträngige und segmentierte RNA enthalten. Die Familie der Reoviridae besteht aus mindestens 9 auch im Tier- und Pflanzenreich weit verbreiteten Genera, die sich z.T. morphologisch unterscheiden. Für die menschliche Pathologie wichtig sind insbesondere die Rotaviren (so genannt nach dem Rad-ähnlichen Aussehen der Partikel in der Negativ-Kontrast-Aufnahme, s. Abb. 5.7i), die für einen hohen Anteil der Säuglingsenteritiden verantwortlich sind. Die zuerst entdeckten Reoviren, einem anderen Genus zugehörig, scheinen respiratorische und enteritische Infekte zu verursachen (daher der ursprüngliche Name Respirenteroviren).
Auch zur Familie Reoviridae gehörig ist das Colorado-Zeckenfieber-Virus (früher zu der jetzt *taxonomisch* obsoleten Arbovirus-Gruppe gerechnet, s.o.), Erreger einer u.U. gerade bei Kindern schwer verlaufenden, Dengue-Fieber-artigen Allgemeininfektion. Es ist Repräsentant des Genus Coltivirus (von *Col*orado *ti*ck fever).

Orthomyxoviridae
Zu dieser Familie zählen die Influenzaviren der Typen A, B und C. Typ A-Viren kommen u.a. auch bei Vögeln, Pferden und Schweinen vor, was durch mögliche genetische Rekombination (Reassortment) zwischen Viren des Menschen und der Tiere von großer epidemiologischer Bedeutung ist (Epi- und Pandemien). Alle Vertreter dieser Gruppe besitzen ein segmentiertes Genom und das Enzym Neuraminidase (Neuraminidase-Hemmer!).

Paramyxoviridae
Die vier Parainfluenzavirustypen verursachen beim Menschen vor allem Atemwegsinfekte und Pneumonien. Sie besitzen, ebenso wie das Mumpsvirus, eine Neuraminidase. Den Masern-, Staupe- und Rinderpestviren, die ebenfalls zu dieser Gruppe gerechnet werden, fehlt zumeist das Enzym. Außerdem gehört auch noch das RS-(respiratory syncytial-)Virus zu dieser Familie, ein wesentlicher Erreger der Bronchiolitis und Pneumonie des Säuglings.

Rhabdoviridae
Die Viren dieser Familie haben eine geschoßartige Form (s. Abb. 5.7l). Zu ihnen gehören die Tollwutviren.

Filoviridae
Ihr Name geht auf ihr fadenförmiges Aussehen zurück. Die Partikel, die eine (–)-Einzelstrang-RNA enthalten, sind lipidhaltig und können zirkulär oder in anderen Figuren vorliegen, z.T. sind sie verzweigt. Filoviren wurden als Erreger schwerer hämorrhagischer Fieber entdeckt, die 1967 erstmals bei Laborpersonal in Marburg, Frankfurt und Belgrad im Zusammenhang mit Affenimport *(Cercopithecus aethiops)* aus Afrika gesehen wurden (Marburg-Virus). Seither sind mehrere sporadische und ausgedehnte Ausbrüche der Krankheit beim Menschen und bei Tieren beobachtet worden. So kam es 1976 zu Epidemien hämorrhagischen Fiebers in Zaire und dem Sudan mit mehr als 430 Toten. Erreger war das Ebola (Fluß in Zaire)-Virus, das antigenisch vom Marburg-Virus unterschieden ist. Seither sind mehrere, z.T. schwere Ebola-Virus-Ausbrüche in Zaire und Gabun beobachtet worden. Auch von Makaken (*M. cynomolgus*) aus den Philippinen wurden Filoviren isoliert. Das natürliche Reservoir dieser offenbar weit verbreiteten Erreger ist nicht bekannt.

Bunyaviridae
In diese Familie mit etwa 300 Serotypen gehören zahlreiche „exotische" Viren, die zum größten Teil durch Moskitos übertragen werden. Ätherempfindliche RNA-Viren, die von Arthropoden übertragen werden und überwiegend hämagglutinierende Eigenschaften besitzen, wurden wegen ihres Übertragungsmodus früher in einer Gruppe Arbo-Viren (*ar*thropod-*bo*rne) zusammengefaßt. Diese Klassifizierung nach der Art der Übertragung widerspricht heutigen physikochemischen Einteilungsprinzipien (s.o.). Daher

hat heute der Begriff Arbovirus ausschließlich epidemiologische Bedeutung angenommen. Die Viren dieser ehemaligen Gruppe gehören nunmehr zum großen Teil in die Familien Bunyaviridae, Togaviridae und Flaviviridae.
In die Familie der Bunyaviridae gehören die Erreger des Phlebotomus-Fiebers, das u.a. in Süditalien, der Toskana und Sizilien auftritt, die Erreger der California-Enzephalitis (Bunyavirus im engeren Sinn) und die Erreger von hämorrhagischem Fieber in Südrußland, auf der Krim, im Kongo und Uganda (Kongo-Krim-hämorrhagisches Fieber, Genus Nairovirus).
Mitglieder des Genus Hantavirus der Bunyaviridae sind Erreger des oft schwer verlaufenden hämorrhagischen Fiebers mit renalem Syndrom, das vor allem im fernen Osten und Rußland vorkommt (Hantaan-Virus-Komplex). Eine leichter verlaufende Form, Nephropathia epidemica, kommt in Skandinavien, Mittel- und Westeuropa und auf dem Balkan vor (Puumala-Virus-Komplex). Ein „Pulmonary Syndrome Hantavirus“, erwies sich als ätiologisches Agens eines im Südwesten der USA 1993 beobachteten „akuten Atemnot-Syndroms“ (ARDS) mit hoher Letalität. Das jetzt als Sin Nombre bezeichnete Virus ist in Nord- und Südamerika verbreitet. Natürlicher Wirt des Genus Hantavirus sind Nager, Infektionsquelle des Menschen sind deren Exkrete in Aerosolform; Arthropoden fungieren also nicht als Vektor.

Togaviridae
Diese Familie, deren Namen von dem römischen Umhang herstammt, umfaßt neben tierpathogenen Viren viele der früheren Arboviren

pacivirus) klassifiziert. Obwohl nur ca. 20% der HCV-Infektionen klinisch manifest werden, kann die Infektion je nach Infektionsquelle in bis zu 80% der Fälle zu einer chronischen Hepatitis führen, die schließlich in eine Leberzirrhose und ein hepatozelluläres Karzinom übergehen kann.

Coronaviridae
Der Name rührt von den kranzartigen Oberflächenfortsätzen dieser Viren her (s. Abb. 5.7f). Coronaviren des Menschen verursachen respiratorische Syndrome (Schnupfen, selten Pneumonie) und möglicherweise Gastroenteritiden.

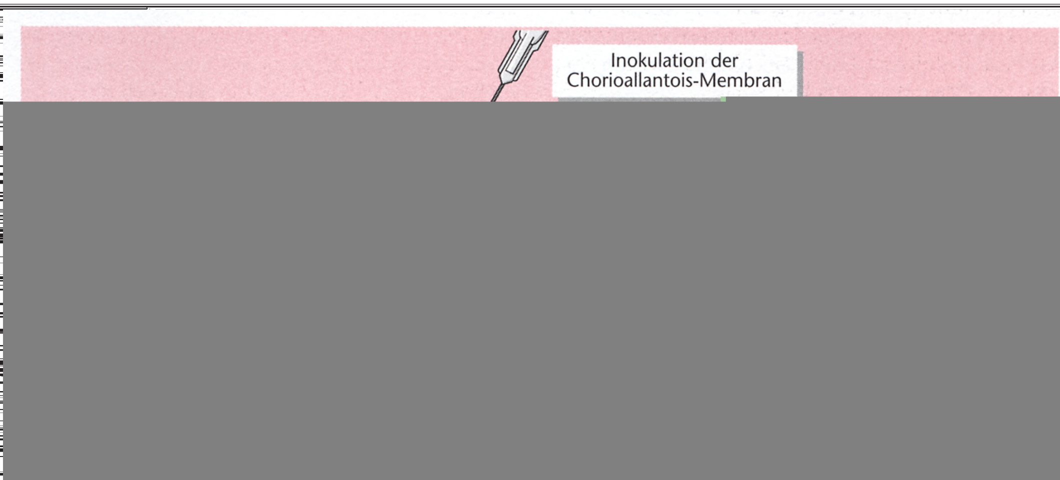
Arenaviridae
In diese Familie gehören z.B. das Virus der lymphozytären Choriomeningitis (LCM-Virus), die Erreger hämorrhagischer Fieber in Süd- und Mittelamerika und des Lassa-Fiebers. Die Arenaviren haben ihren Namen von lat. arenosus = sandig, da es nach elektronenmikroskopischen Dünnschnitt-Aufnahmen scheint, als enthielten die mit einer pleomorphen Hülle ausgestatteten Viren „Sand“-Granula. Es handelt sich um eingelagerte zelluläre Ribosomen (s.a. Abb. 5.9).

Retroviridae
Diese RNA-Viren enthalten eine reverse Transkriptase. Ihre Vermehrung erfolgt über eine DNA-Zwischenstufe (Provirus). Sie verursachen u.a. bei verschiedenen Tieren Leukämien oder Sarkome (ROUS-Sarkom Virus der Hühner 1911).
Seit 1980 wurden Retroviren des Menschen als

len vermehrt werden. Für das Arbeiten mit Bakteriophagen und Pflanzenviren bedeutet dies keine besondere Schwierigkeit, da Bakterien und Pflanzen in praktisch jeder beliebigen Menge gezüchtet werden können. Der Erforschung animaler Viren waren jedoch vor Einführung der Zellkulturtechnik recht enge Grenzen gesetzt. Als Nachweissystem stand für animale Viren neben dem nicht immer anwendbaren Brutei nur das lebende Tier zur Verfügung, und sowohl Bruteier als auch lebende Tiere sind bei weitem nicht so leicht zu handhaben wie Pflan-

Fällen verwendet. So kann man z.B. auch heute noch manche Coxsackie A-Viren nur in der neugeborenen Maus isolieren. Auch für einige andere Viren (z.B. manche slow viruses, s.u. und Kap. 11.6) existieren noch keine Zellkultur-Nachweissysteme. Für Untersuchungen zur Pathogenese von Viruskrankheiten sind Tierversuche aber bleibend notwendig.

Bebrütetes Hühnerei



dere für die Produktion von Impfstoffen (z.B. Tollwut-Impfstoff).

Permanente Zellinien

Diese Kulturen bestehen aus Zellen, die sich unbegrenzt oft teilen können. Solche praktisch „unsterblichen" Zellen stammen entweder ursprünglich von Tumorgeweben ab oder sie entstehen in der Kultur (z.B. durch Mutation oder Transformation durch onkogene Viren bzw. kanzerogene Chemikalien). Sie weisen eine Reihe von morphologischen und funktionellen Unterschieden zu „normalen" Zellen des gleichen Ursprungsgewebes auf.

Die Zellen permanenter Linien sind aneuploid, sie sind entdifferenziert, und sie haben oft die Fähigkeit zur „density-dependent inhibition" (s.o.) verloren.

Die wohl bekannteste permanente Zellinie ist die von einem menschlichen Zervixkarzinom stammende *HeLa-Linie* (Abb. 5.13), die seit Anfang der fünfziger Jahre in den virologischen Instituten der ganzen Welt in Gebrauch ist. HeLa-Zellen enthalten bezeichnenderweise transformierende Gene des humanen Papillomvirus Typ 18.

Nachweis der Virusvermehrung in der Zellkultur

Die Vermehrung von Viren führt oft zu charakteristischen Veränderungen in den beimpften Kulturen, die leicht nachgewiesen werden können.

Zytopathischer Effekt (CPE)

Viele, wenn auch längst nicht alle Virusinfektionen führen zum Absterben der infizierten Zelle (zytozidale Infektion). Die daraus resultierenden Veränderungen im Zellrasen werden als **zytopathischer Effekt (CPE)** bezeichnet. Sie sind im allgemeinen in der unfixierten und ungefärbten Kultur im Lichtmikroskop bei niedriger Vergrößerung sichtbar. Die Morphologie des zytopathischen Effekts hängt nicht nur von der Art der infizierten Zellen ab; sie erlaubt mitunter Rückschlüsse auf das isolierte Virus. So führen z.B. Enteroviren zu einer Abrundung der vorher polygonalen Affennierenzellen und zu einer Ablösung der toten Zellen vom Boden des Kulturgefäßes (Abb. 5.11). Das Zytomegalievirus verursacht einen CPE, der durch große abgerundete Zellen gekennzeichnet ist, die zwischen den



a b

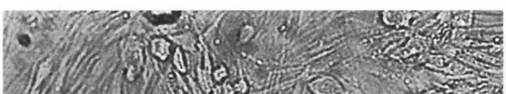
Abb. 5.11a–b a) Durch ein Enterovirus (Coxsackie B4) in permanenten Affennierenzellen hervorgerufener CPE; b) Nicht-infizierte Kontrolle.

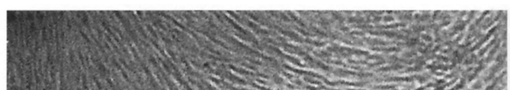
noch uninfizierten parallel ausgerichteten Fibroblasten liegen wie die Körner in einer Ähre (Abb. 5.12). Adenoviren führen oft zum Auftreten traubenförmig miteinander verklumpter Zellen (Abb. 5.13).

Im weiteren Sinne stellt auch die Bildung mehrkerniger Riesenzellen durch einige, meist umhüllte Viren (Herpesviren, Orthomyxoviren, Paramyxoviren) einen zytopathischen Effekt dar. Einige Viren rufen intrazytoplasmatische (z.B. Pockenviren) oder intranukleäre (z.B. Herpes-

abgeschaltet, was notwendig zum Zelltod führen muß. Die Unterdrückung der zellulären Proteinsynthese ist aber keinesfalls die Ursache des 5–6 Stunden nach der Infektion zu beobachtenden CPE (s. Abb. 5.11), dessen unmittelbare Ursache bei der Komplexizität der in der infizierten Zelle ablaufenden Vorgänge schwer zu präzisieren ist, auch wenn die Entwicklung des CPE offensichtlich an die Synthese viralen Proteins gebunden ist.

Der typische frühe durch Adenoviren hervorge-





Phänomen verursachen (s. auch DI-Partikel, Kap. 5.1.8).
Die Interferenz kann dazu benutzt werden, die Vermehrung nicht zytopathogener Viren in der Zellkultur nachzuweisen. So wurde z.B. das Rötelnvirus dadurch entdeckt, daß es infizierte Affennierenzellen, die keinerlei zytopathischen Effekt aufwiesen, resistent gegenüber der Superinfektion mit dem zytopathogenen ECHOvirus 11 machte.
Interferenz kann auch im Organismus eine erhebliche Rolle spielen, z.B. wenn der Intestinaltrakt mit anderen Enteroviren infiziert ist und dann eine Polio-Schluckimpfung nicht „angeht" (s. Picornaviren, Kap. 6.7).

Nachweis viraler Antigene
Viren sind bzw. enthalten Antigene. Das Auftreten dieser Antigene im Rahmen der Virusvermehrung läßt sich durch immunologische Methoden nachweisen.
Intrazelluläre Virus-Antigene werden im allgemeinen mit Enzym-(EIA) oder Fluoreszenzimmuntests (FIT) nachgewiesen (Methodik s. Kap. 2.3). Das Wesentliche dieser Methoden ist die Ausnützung der hohen Spezifität immunologischer Reaktionen (u.U. mit monoklonalen Antikörpern) bei gleichzeitiger Verwendung geeigneter Reportermoleküle (Farbreaktionen katalysierende Enzyme oder Fluorochrome). Die zu untersuchenden Zellen (Gewebe) werden fixiert, dadurch werden u.a. die Zellmembranen für die Antikörper durchlässig.
Die praktische Anwendung ist vielfältig. So kann die Virusinfektion in bestimmten Organen bzw. Zielzellen lokalisiert werden, z.B. Zytomegalievirus bei Allgemeininfektionen (Immunsupprimierte, pränatale Infektionen) in der Leber, RS-Virus im Rachen oder der Lunge von Säuglingen etc. Das Verfahren dient auch der Schnelldiagnostik bei einem langsam replizierenden Agens wie dem Zytomegalievirus. Beim Virusisolierungsversuch (z.B. aus dem Urin) ist der zytopathische Effekt oft erst nach Wochen deutlich erkennbar. Zu seiner Vermehrung bedarf das Virus aber der Synthese von sog. Frühproteinen (α- und β-Proteine), die für die Virusreplikation unerläßlich sind und schon wenige Stunden nach der Infektion synthetisiert werden. Mit ihrem Nachweis durch den EIA gelingt die Diagnose der Zytomegalieinfektion schon 12–56 Stunden nach Probeneingang, so daß rechtzeitig gezielte therapeutische Maßnahmen möglich werden (Abb. 5.14, Farbtafeln).
Antigene im Zellüberstand (extrazelluläre Antigene) und intrazelluläre Antigene nach Extraktion können auch mit weiteren immunologischen Verfahren nachgewiesen werden: Komplementbindungsreaktion, Immundiffusion, Immunpräzipitation etc. In den Fällen, in denen hämagglutinierende Viren vermutet werden, prüft man, ob der Zellkulturüberstand Erythrozyten agglutiniert. Durch eine Hemmung der Agglutination mit bekannten Antiseren kann dann das agglutinierende Agens identifiziert werden.

Autoradiographie
Mit dieser Methode läßt sich z.B. die Vermehrung der viralen Nukleinsäure untersuchen. Man bietet der infizierten Kultur hierzu radioaktiv markierte Bausteine der Nukleinsäuresynthese (z.B. ^{3}H-Uridin) an, die in neugebildete Nukleinsäure-Moleküle eingebaut werden. Exponiert man nun eine solche Kultur einer Fotoemulsion, so wird diese überall dort geschwärzt, wo radioaktives Material eingebaut wurde. Ganz analog kann mit markierten Aminosäuren die Proteinsynthese untersucht werden. Somit können Ort und Umfang der Biosynthese erfaßt werden. Das Verfahren ist nur dann zum Studium der Vermehrung viraler Makromoleküle tauglich, wenn zelluläre und virale Synthese differenziert werden können (Abschaltung zellulärer Synthese z.B. nach Infektion oder durch Actinomycin D, unterschiedliche Lokalisation der Synthese zellulärer und viraler Makromoleküle).
Die Abb. 5.15 macht die unterschiedliche Lokalisation der Synthese zellulärer und viraler RNA deutlich. Die uninfizierte Zelle zeigt nach 5 Minuten Exposition von ^{3}H-Uridin nur Silberkörner über dem Kern (A). Nach Infektion mit einem Picornavirus findet sich die virale RNA-Synthese im Zytoplasma (hier 6 h p. i.), die im Kern lokalisierte zelluläre RNA-Synthese ist gehemmt (B).

Gentechnische Verfahren
Der Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäure bzw. einzelner Gene oder Nukleotidsequenzen hat die Grundlagenforschung und Virus- bzw. mikrobiologische Diagnostik revolutioniert. Bei sorgfältiger Technik ist ein spezifischeres Kriterium als die Nukleotidsequenz („Gene" bzw. Bruchstücke davon) nicht denkbar, die Anwendungen sind vielfach: „In-situ-Hybridisierung", SOUTHERN Blot, Northern Blot, Dot Blot, erlau-

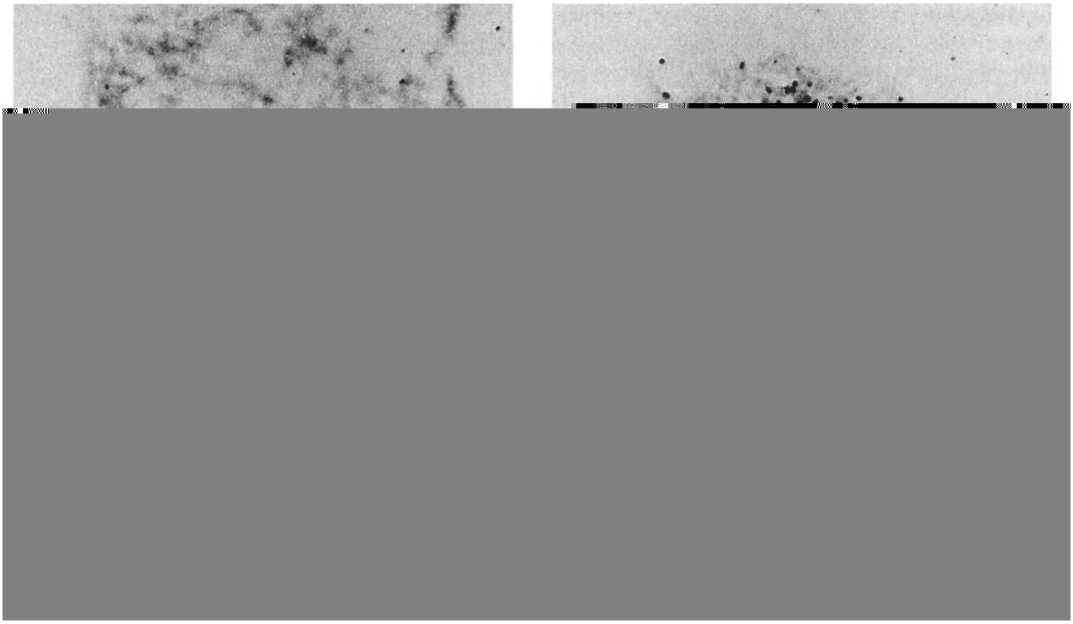


Abb. 5.15a–b Effekt einer Picornavirusinfektion auf die Verteilung der RNA-Synthese in der Zelle. a) Uninfizierte Zelle; b) infizierte Zelle 6 Stunden nach Virusinokulation (Franklin, R. M. and D. Baltimore, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 27 (1962) 175).

ben quantitative Aussagen. Bei manchen Viren, z.B. den Papillomviren (s. dort) ist man für den Nachweis auf die Nukleinsäure-Hybridisierung angewiesen, da hier Infektionstests fehlen (Genotypisierung s.o.). Entsprechendes gilt für den Nachweis des Hepatitis B-Virus, wobei die quantitative DNA-Bestimmung des Hepatitis-B-Virus im Blut ein wesentlicher epidemiologischer (Infektiosität!) und prognostischer (chronische Hepatitis, Therapieerfolg) Marker ist (s. dort).

Mit der *Polymerase-Kettenreaktion (PCR)* ist eine extrem empfindliche, in wenigen Stunden durchgeführte und heute breit angewandte Methode zur Hand. So ist der Virusnachweis aus dem Liquor bei der Herpesenzephalitis im Frühstadium in 12–24 Stunden zu führen und eröffnet günstige Bedingungen für die spezifische Therapie. Bei manchen Infektionen, wie z.B. der Zytomegalie, ist die *quantitative* PCR unbedingt anzustreben, um diagnostisch relevante Ergebnisse zu erhalten.

Restriktionsendonukleasen erkennen spezifische Nukleotidsequenzen, die über das Virusgenom verteilt sind, EcoRI z.B. die Sequenz GAATTC in Richtung 5'→3' auf jedem DNA-Strang. Nach Verdauung mit einem entsprechenden Enzym und anschließender Agarose-Gelelektrophorese findet sich dann ein spezifisches Muster. Diese Methode des „genomischen Fingerprinting" läßt im allgemeinen Gleichheit oder Ungleichheit von Virusgenomen erkennen. So kann man „molekulare Epidemiologie" treiben, womit es z.B. gelingen kann, Infektionsketten von *Herpes genitalis* zu bestimmen. Der frühere Nachteil der Nukleinsäure-Hybridisierungsverfahren, nämlich die Notwendigkeit, radioaktiv markiertes Material zu verwenden, ist zunehmend durch nichtradioaktive Alternativverfahren behoben (s. Untersuchungsverfahren Kap. 5.1.13).

Heute sind gentechnische Verfahren eine entscheidende diagnostische Methode für praktisch alle Viren.

Quantitativer Nachweis von Viren

Für wissenschaftliche und viele diagnostische Fragestellungen ist ein quantitatives Vorgehen unerläßlich. Zur Bestimmung der Virusmenge in einer Virussuspension existieren verschiedene Verfahren, von denen hier drei kurz besprochen werden sollen.

Auszählen von Viruspartikeln im Elektronenmi-

kroskop. Hierfür wird ein gemessenes Volumen der unbekannten Virussuspension mit einer bekannten Anzahl von z.B. Latex-Partikeln gemischt. Im Elektronenmikroskop werden dann sowohl die Latex-, als auch die Viruspartikel in angetrockneten Mikrotropfen gezählt. Aus dem Verhältnis der Partikelzahlen kann dann die Viruskonzentration errechnet werden. Mit dieser Methode wird die Gesamtmenge der Viruspartikel ermittelt, es wird nicht zwischen infektiösen und nicht-infektiösen Viren unterschieden. In den meisten Fällen interessiert jedoch nur die Konzentration an infektiösen Viren. Die Menge infektiöser Viren in einer Suspension, der sog. *Infektiositätstiter*, wird durch die folgenden Methoden bestimmt:

Quantitative Plaque-Methode. Diese quantitative oder Auszählungsmethode entspricht der Mengenbestimmung von Bakterien durch Auszählen der Kolonien, die durch eine geeignete Verdünnung der Bakterien-Suspension hervorgerufen werden. Jede Kolonie ist die Nachkommenschaft eines einzelnen Bakteriums, was sich in einer linearen Beziehung zwischen Verdünnungsgrad und Koloniezahl manifestiert (Abb. 5.16).

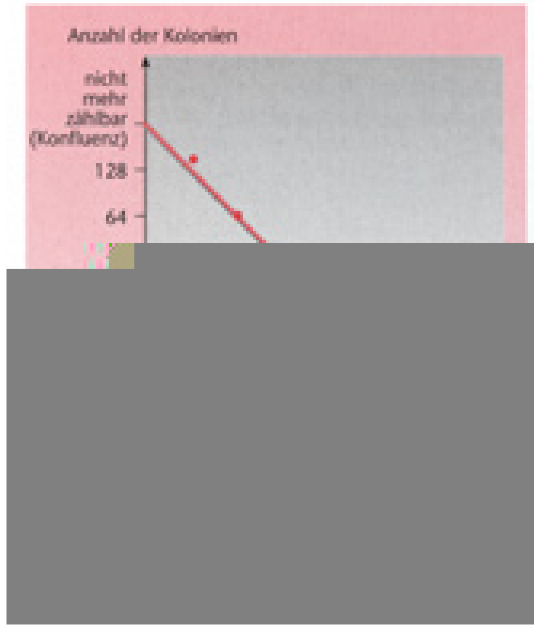


Abb. 5.16 Lineare Abhängigkeit der Anzahl neugebildeter Bakterienkolonien von der Verdünnung der Bakteriensuspension.

In der mit Viren infizierten Zellkultur können solche „Kolonien" im allgemeinen nicht entstehen, da neugebildete Tochterviren durch Konvektion im Zellkulturmedium fortgeschwemmt werden und an verschiedenen anderen Stellen der Kultur ihrerseits Zellen infizieren können. Verhindert man jedoch diese ungeregelte Ausbreitung von Tochterviren, so entstehen mit der Zeit größer werdende Defekte (Plaques) in der Zellkultur, deren Anzahl der Menge der infizierenden Viren entspricht (Abb. 5.17). Der sog. **Plaque-Test** für animale Viren wurde von DULBECCO und VOGT entwickelt.

In der Praxis wird so verfahren, daß eine Serie von Zellkulturen mit einer Verdünnungsreihe der Virussuspension inokuliert wird. Durch Zusatz von Agar wird das Nährmedium verfestigt. Dadurch kann sich die Infektion, ausgehend von der ursprünglich infizierten Zelle, nur lokal von Zelle zu Zelle ausbreiten. Nach wenigen Tagen werden in den Kulturen, die mit einer geeigneten Virusverdünnung infiziert wurden, voneinander abgrenzbare Bezirke abgestorbener Zellen, eben Plaques, sichtbar. Diese Plaques können im allgemeinen mit dem bloßen Auge erkannt werden. Jeder Plaque geht in der Regel auf die Infektion durch ein Virus bzw. durch eine sog. plaquebildende Einheit (PBE) oder plaque-forming unit (pfu) zurück, was wiederum – analog dem Beispiel mit den Bakterienkolonien (s. Abb. 5.16) – zu einer linearen Beziehung zwischen der Verdünnung der Virussuspension und der Anzahl der Plaques führt. Der Gehalt einer Suspension an infektiösem Virus (Titer) wird folgendermaßen berechnet: Rufen z.B. 0,1 ml einer 10^{-7} verdünnten Virussuspension im Mittel 46 Plaques hervor, so sind in 1 ml der unverdünnten Suspension 4,6 x 10^9 PBE enthalten.

Aus dem Gesagten ergibt sich auch, daß der Plaquetest geeignet ist, Virusklone, Nachkommen einzelner Viruspartikel, zu isolieren, eine offenbar wichtige genetische Methode. So erkennt man auf Abb. 5.17 Plaques verschiedener Größe, die sich nach Isolierung als genetisch stabile Virusvarianten erwiesen.

Quantitative Endverdünnungsmethode. Bei dieser Methode wird ebenfalls eine geometrische Verdünnungsreihe der zu untersuchenden Virussuspension hergestellt. Mit jeder Verdünnung werden dann mehrere Zellkulturen (Eier oder Versuchstiere) beimpft. Solange im Inokulationsvolumen Viren enthalten sind, gleichgültig ob 1, 2, 3 usw., kommt es zur Infektion der Kultur (Alles-oder-Nichts-Reaktion).

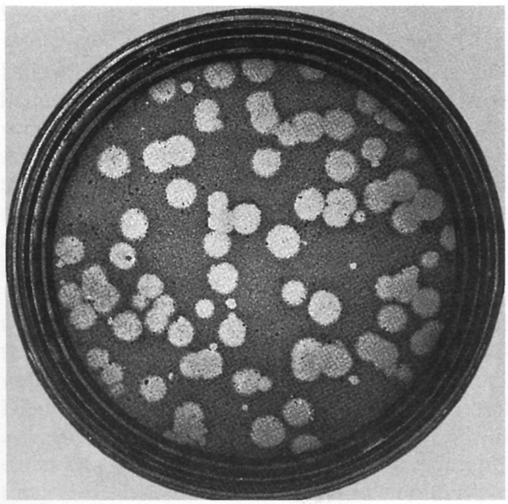


Abb. 5.17 Plaquetest mit dem Virus der klassischen Geflügelpest auf Kulturen von Fibroblasten aus Hühnerembryos. Beachte die große und kleine Plaquevariante (STAIGER, H. R. Virology 22 (1964) 420).

Trägt man den Anteil der durch die verschiedenen Verdünnungsstufen infizierten Kulturen gegen den Logarithmus der Verdünnung auf, so erhält man die sigmoide Kurve von Abb. 5.18. Diese Kurve verläuft wie bei vielen Dosis-Wirkungs-Beziehungen im Bereich der 0%- und der 100%-Wirkung relativ flach, relativ großen Änderungen der Virusdosis entsprechen nur geringfügige Änderungen in der Wirkung, d.h. in diesem Bereich wäre eine Messung unscharf. Im Gegensatz dazu ist die Steigung der Kurve im Bereich der 50%-Wirkung relativ groß und damit eine präzise Messung leichter möglich. Man ermittelt deshalb diejenige Virusverdünnung (evtl. durch rechnerische Interpolation), durch die gerade 50% der beimpften Kulturen infiziert werden, und nennt die darin pro Inokulationsvolumen enthaltene Virusmenge eine ID_{50} (Infektionsdosis 50%). Werden z.B. durch die Verdünnung 1:100000 vier von acht beimpften Röhrchen infiziert (Inokulationsvolumen stets 0,1 ml) so erhält die unverdünnte Virussuspension $10^{5.0}$ ID_{50} in 0,1 ml.

5.1.7 Wechselwirkungen zwischen Virus und Zelle

Da Viren nur innerhalb lebender Zellen ein – von der infizierten Zelle geborgtes – „Leben" entfalten, beanspruchen die Wechselwirkungen zwischen ihnen und den Zellen das größte Interesse der Virologen. Leider ist es im Rahmen dieses Buches nicht möglich, diesem zentralen Kapitel der Virologie auch nur annähernd gerecht zu werden. Unter natürlichen Gegebenheiten ist die Voraussetzung für die Realisierung viraler Funktionen die Infektion einer empfänglichen Zelle. Von einer erfolgten Infektion kann erst

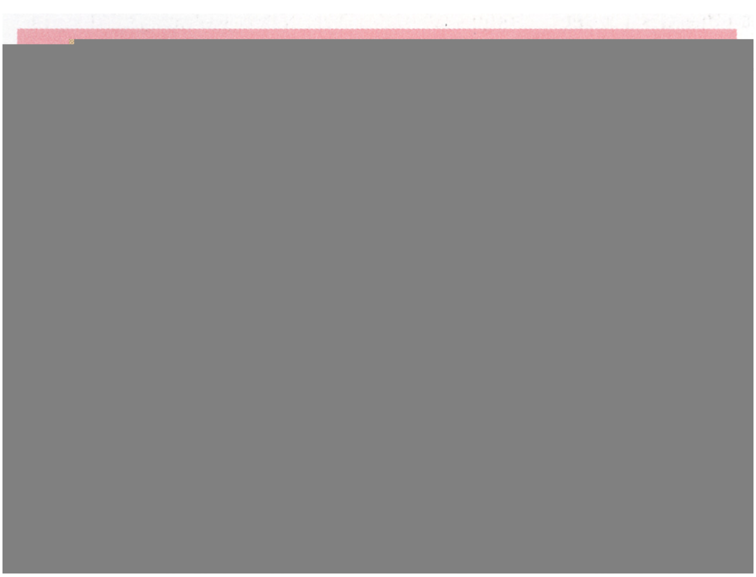


Abb. 5.18 Beziehung zwischen dem Anteil infizierter Kulturen und der Verdünnung der Virussuspension.

dann gesprochen werden, wenn die Virusnukleinsäure in die Zelle gelangt und irgendeine ihrer Genfunktionen realisiert. Die Nukleinsäure stellt also das eigentliche „infektiöse Prinzip" der Viren dar. Viren können nur ein begrenztes Spektrum von Zellen infizieren. Zellen, die durch ein bestimmtes Virus nicht infiziert werden können, da ihnen z.B. die für die Adsorption notwendigen Rezeptoren fehlen, werden als *resistente Zellen* bezeichnet. Im Gegensatz dazu können *nichtpermissive Zellen* zwar infiziert werden, es werden jedoch nicht alle viralen Gene realisiert (*abortive Infektion*). Dies kann wirtszell- oder virusbedingt sein.
Die Infektion einer Zelle durch ein Virus kann für beide verschiedene Folgen haben, die in den folgenden Abschnitten besprochen werden.

Produktive Infektion

Hierbei werden von der Zelle nach Maßgabe des viralen Genoms neue infektiöse Viren synthetisiert, es kommt also zur Virusvermehrung. In vielen bisher bekannten Fällen führt die produktive Infektion zum Tod der Zelle (zytozidale Infektion). Neben anderem liegt ein Grund für den Zelltod darin, daß die meisten Viren die zelluläre Makromolekül-Synthese abschalten (siehe die Abschaltung der zellulären RNA-Synthese nach einer Picornavirusinfektion in Abb. 5.15). In manchen Virus-Zellsystemen überlebt die Zelle jedoch und teilt sich weiter, wobei einige oder alle Tochterzellen weiterhin Virus synthetisieren **(endosymbiotische Infektion).** Nach der Infektion durch bestimmte Tumorviren (z.B. ROUS-Sarkom-Virus) überlebt die Zelle zwar und unterhält weiter die Virusvermehrung, es kommt jedoch zur onkogenen Transformation der Zelle, und die Zelle verhält sich nun wie eine Tumorzelle.
Die Virusvermehrung stellt trotz ihres exzessiv parasitischen Charakters einen hoch regulierten Prozeß dar. Sie wird herkömmlicherweise in folgende Stadien eingeteilt:

1. Adsorption
2. Penetration
3. Freisetzung der Virusnukleinsäure (Uncoating)
4. Synthese von Virusproteinen und Replikation der Virusnukleinsäure
5. Zusammenbau der Virusbestandteile zu Viria (Reifung)
6. Ausschleusung der neugebildeten Viren.

Adsorption

Der erste Schritt bei der Infektion ist die spezifische Bindung des Virus an bestimmte Rezeptoren der Zellmembran. Adsorbiertes Virus kann durch Antikörper noch neutralisiert werden. Durch experimentelle Manipulationen kann man das adsorbierte Virus in vielen Fällen nahezu vollständig in infektiöser Form zurückgewinnen. Die Rezeptoren der Zellmembran sind für die einzelnen Viren mehr oder weniger spezifisch und heute in großem Umfang molekularbiologisch charakterisiert (Beispiele HIV und Picornaviren). Das Wirtsspektrum eines Virus kann u.a. davon abhängen, ob an der Zelloberfläche die entsprechenden Rezeptoren für die Bindungsstellen des Virus vorhanden sind oder nicht. Freie infektiöse Nukleinsäure, die man aus manchen Viren isolieren und in eine Zelle einschleusen kann (z.B. bestimmte DNA-Viren, Picornaviren, Togaviren, Coronaviren etc.), hat dann ein wesentlich größeres Wirtsspektrum als die kompletten Viria.
So vermehrt sich z.B. Poliovirus nicht in Hühnerfibroblasten. Dies liegt daran, daß den Hühnerfibroblasten die für die Adsorption notwendigen Rezeptoren fehlen. Extrahierte Poliovirus-RNA kann demgegenüber von den Zellen aufgenommen werden und diese zur Produktion kompletter Polioviren veranlassen. Die neugebildeten Viren haben wiederum keine Möglichkeit, weitere Hühnerfibroblasten der Kultur zu infizieren. Deshalb führt die Infektion von Hühnerfibroblasten durch Poliovirus-RNA nur zu einem einzigen Vermehrungszyklus des Virus. Die freie RNA von Viren mit viriongebundener Transkriptase (s.u.) ist selbstverständlich nicht infektiös.

Penetration

Bei umhüllten Viren kann das Envelope mit der Zellmembran fusionieren und das Nukleokapsid ins Zellinnere gelangen. Auch nackte Viren scheinen in vielen Fällen mit der Zellmembran zu reagieren. Dabei erfahren sie eine Konformationsänderung. Sowohl umhüllte als auch nackte Viren scheinen aber auch durch Endozytose (Phagozytose, Viropexis) in die Zelle zu gelangen und erst dann, unter Umständen wiederum erst nach Interaktion mit der „eingestülpten" Zellmembran oder endosomalen Membranen, das Zytoplasma zu erreichen.

Uncoating

Damit die Virusnukleinsäure wirksam werden kann, muß sie aus dem Nukleokapsid freigesetzt

„Stadien“-Einteilung, da Stadium 4 teilweise vor Stadium 3 liegt.

Eine Unterteilung in Früh- und Spätprozesse wird bei den RNA-Viren im allgemeinen nicht



Abb. 5.19 Einteilung von Virusfamilien nach den Replikationsstrategien und der Beziehung des Virusgenoms zur mRNA. Die Pfeile innerhalb der Kästen zeigen den Informationsfluß während der Replikation. Die Pfeile in Richtung der mRNA beginnen bei der Matrize der mRNA-Synthese (WATSON et al., Molecular Biology of the Gene, Benjamin / Cummings Publ. Co., Inc., 1987).

(multicistronisches) Protein, das schon während der Synthese enzymatisch in die eigentlichen Virusproteine „geschnitten" wird (processing). Die Replikation der RNA aller Viren dieser Gruppe erfordert viruskodierte Enzyme (RNA-abhängige RNA-Polymerasen), die (+)-Strang-RNA über einen komplementären (–)-RNA-Strang als Intermediärprodukt synthetisieren können. Bekanntlich fehlt der uninfizierten Zelle ein derartiges Enzymsystem. An einem Komplementärstrang werden gleichzeitig mehrere (+)-Stränge gebildet, wodurch die Effektivität der Synthese der benötigten Virion-RNA gesteigert wird (Abb. 5.21). Die Struktur aus (–)-Strang und mehreren (+)-Strängen samt RNA-Polymerasen nennt man replikative Intermediärform (RI).

4. Einzelsträngige RNA-Viren mit einem RNA-Molekül von Antimessenger-Polarität (Paramyxoviren, Rhabdoviren, Filoviren). An der RNA dieser Viren werden durch eine im Virion enthaltene Transkriptase mehrere monocistronische mRNA-Moleküle synthetisiert.

5. Einzelsträngige RNA-Viren mit mehreren RNA-Molekülen und Antimessenger-Polarität (Orthomyxoviren). Bei Orthomyxoviren besteht das Genom aus 8 oder mehr RNA-Stücken mit (–)-Polarität. Jedes Stück wird von einem im Virion vorhandenen Enzym zumeist zu monocistronischer mRNA transkribiert.

6. Doppelsträngige RNA-Viren (Reoviren). Die 10–12 (je nach Genus) doppelsträngigen RNA-Segmente der Reoviren werden ebenfalls durch ein Virion-Enzym transkribiert, und zwar noch innerhalb des im Zytoplasma lokalisierten, parentalen, zum Core(oder subviralen)-Partikel abgebauten Virions. Die Virion-Transkriptase benutzt den (–)-Strang des jeweiligen Doppelstrang-Segments als Matrize. Die Transkription erfolgt zeitlich reguliert. Die verschiedenen (+)-Strang-mRNAs werden durch die Vertices des Core-Partikels herausgedrängt und haben 2 Funktionen: Sie dienen erstens als – zumeist – monocistronische Messenger für die Reovirus-spezifischen Struktur- und Nichtstrukturproteine. Die RNA dient aber auch – allerdings erst Stunden später – als Matrize für die Replikase, die den (–)-Strang synthetisiert. Genomischer

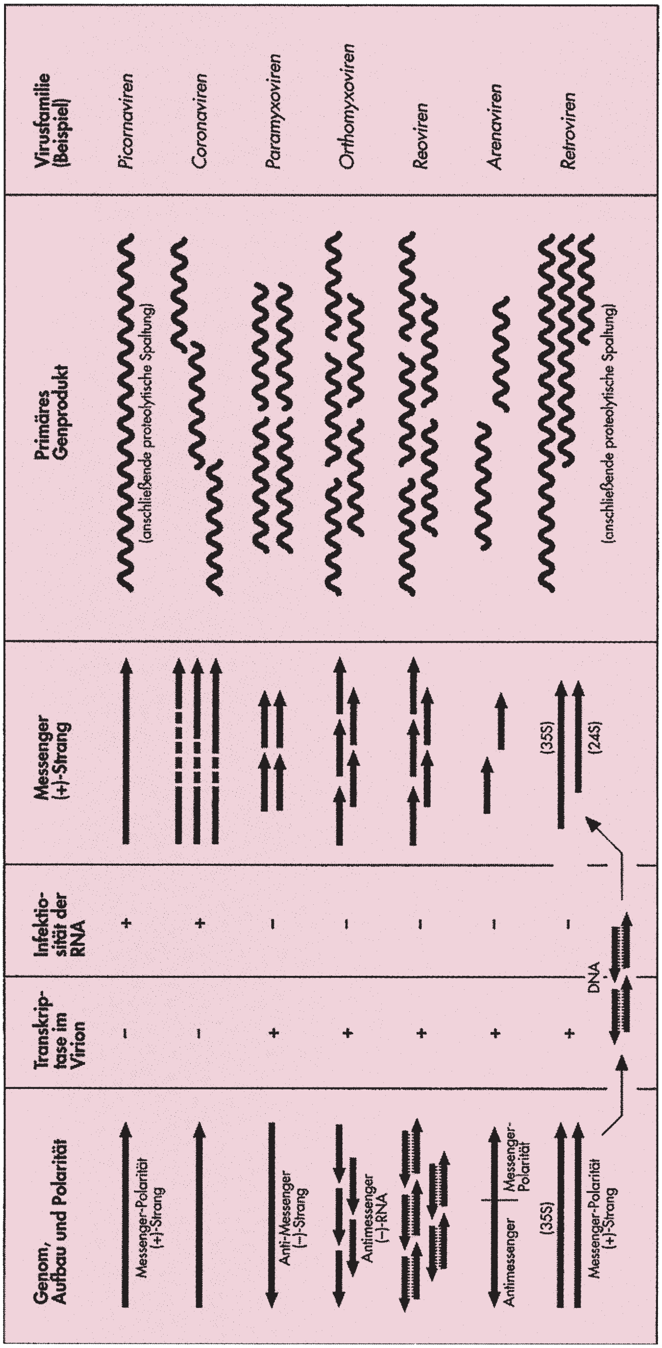
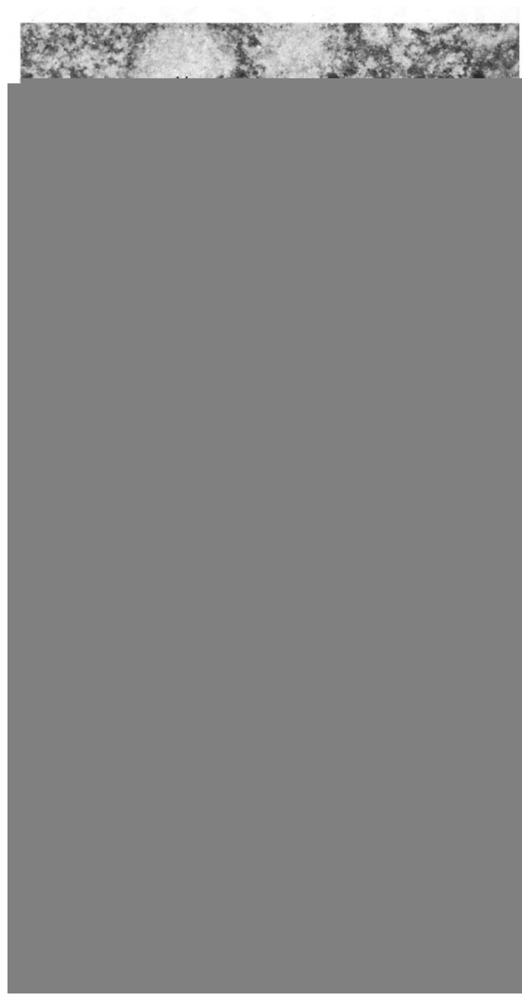


Abb. 5.20 Verschiedene RNA-Virusfamilien und ihre primären Expressionsstrategien. Die Zahl der multiplen Genomstücke, mRNAs und Polypeptide ist nur diagrammatisch zu verstehen (nach Dulbecco, R. and H. S. Ginsberg Virology, J. B. Lippincott Co., 1988).

(+)-Strang und komplementärer (–)-Strang bilden dann die doppelsträngige RNA für die Tochterviren.

7. Einzelsträngige RNA-Viren mit „ambisense“ Polarität (Arenaviren, Bunyaviren). Das wesentliche Merkmal dieser Gruppe von RNA-Viren (die 2 bzw. 3 RNA-Stücke beinhalten) ist die zweifache Polarität einzelner RNA-Segmente:

5



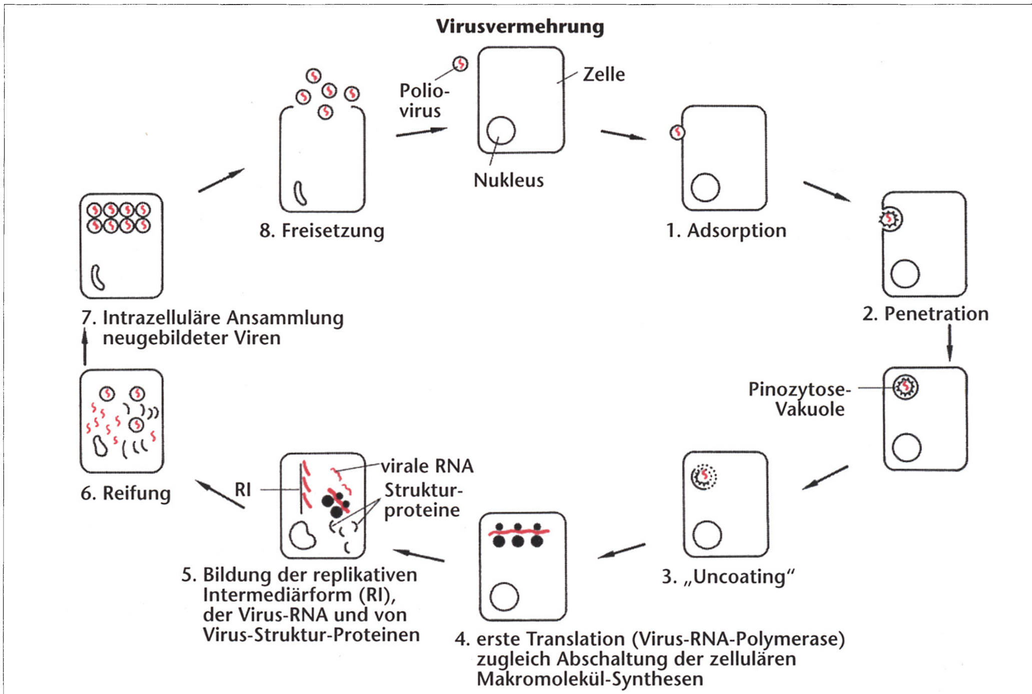


Abb. 5.24 Schematische Darstellung des Vermehrungszyklus von Poliovirus.

nation durch das Virus entspricht. Durch die Reaktion der veränderten Zelloberfläche mit den entsprechenden Virusrezeptoren einer nicht infizierten Nachbarzelle können die Zellen in Analogie zur Adsorption und Penetration miteinander verschmelzen und Riesenzellen bilden (endogene Fusion).

Die Abbildungen 5.24 und 6.30 zeigen zusammenfassend schematisch die Vermehrungszyklen des Polio- bzw. Influenzavirus.

Es muß aber noch einmal betont werden, daß die Vermehrungszyklen selbst von „simplen“ Viren – wie auch Polioviren – hochregulierte, komplizierte Prozesse sind, die in diesem Rahmen nicht dargestellt werden können. Es ist offensichtlich, daß das Studium der Struktur und Replikation von Viren als Modell und Anregung zum Verständnis entsprechender Prozesse bei höheren Organismen dienen kann.

5.1.8 Anomale Virusvermehrung (abortive Infektion und DI-Partikel)

Aus Gründen, die an der Zelle (nicht-permissive Zelle, chemische Behandlung der Zelle) oder am Virus (defektes Virus) liegen können, kommt es hier nur zu einem unvollständigen, abortiven Vermehrungszyklus, d.h. nur einige Viruskomponenten oder auch alle werden synthetisiert, aber neue, infektionstüchtige Viren werden nicht gebildet. Auch die abortive Infektion kann zum Zelltod oder zur Transformation der Zelle führen. Eine Zelle wird für ein Virus „nicht-permissiv“, wenn ihr z.B. ein Enzym oder eine tRNA fehlt, die das betreffende Virus zur Vermehrung benötigt.

Werden nicht-permissive Zellen, in denen ein abortiver Zyklus abgelaufen ist, mit permissiven Zellen kokultiviert oder fusioniert, so kann u.U. die normale Virusvermehrung noch abgeschlossen werden. Fusionen verschiedener Zellen können dadurch erreicht werden, daß man der Kultur bestimmte Viren (z.B. Parainfluenzaviren) zusetzt (exogene Fusion). Die Fusion tritt auch ein, wenn das fusionierende Virus durch UV-Bestrahlung inaktiviert worden ist. Mittels der Kokultivierung von Hirnbiopsiematerial erkrankter Kinder mit Affennierenzellen kann z.B. das Virus der subakuten sklerosierenden Panenzephalitis gelegentlich isoliert werden, ein Masernvirus, dessen Expression von Genen, die für

Strukturproteine des Envelopes kodieren, in Hirnzellen stark restringiert ist. Parallel dazu können Mutationen z.B. im M-Protein auftreten, die eine erfolgreiche Translation nicht mehr zulassen. Abortive Vermehrungszyklen mit genetisch defekten Viren sind keine Seltenheit (s. Kap. 5.1.9, Mutationen und ts-Mutanten). Durch Koinfektion mit einem Helfer-Virus, meist einem verwandten Virus, kann der Defekt durch Bereitstellung der defekten Funktion *temporär* ausgeglichen werden.
Die defekten Nachkommen bedürfen wiederum eines Helfers, es sei denn, es ist z.B. durch Rückmutation zu einer permanenten Reparatur im genetischen Material des Virus gekommen. Ein extremes Beispiel stellt das Adeno-Associated Virus (AAV) des Menschen dar, ein Parvovirus, das zum Genus Dependovirus gehört (s. dagegen Genera Parvovirus und Erythrovirus, Kap. 6.1). Wie der Name nahelegt, wird dieses Virus nur in Zellen repliziert, die gleichzeitig mit Adenoviren (oder Herpesviren) infiziert sind. Dabei substituiert das Helfervirus eine bei Dependoviren defekte Funktion in der DNA-Replikation.
Eine besondere Klasse von defekten Viren sind die sog. defekten interferierenden Viruspartikel, die **DI-Partikel**. Wenn z.B. Influenzaviren mit hoher *Multiplizität* (= Anzahl der eingesetzten Viruspartikel pro Zelle) wiederholt passagiert werden, so kann die Ausbeute *infektiöser* Partikel um den Faktor 10^6 zurückgehen, obwohl die Gesamtzahl von Partikeln ungefähr erhalten bleibt, d.h., es werden große Mengen defekter Partikel produziert, die mit der Synthese infektionstüchtiger interferieren. Dieses Phänomen wurde 1952 zuerst durch VON MAGNUS intensiv untersucht (V. MAGNUS-Phänomen). Den defekten Partikeln fehlt ein Teil des Genoms. Zur Vermehrung sind sie auf die Hilfe infektionstüchtiger, homologer Viren angewiesen, obwohl sie selbst auch Funktionen in Abwesenheit infektionstüchtiger Partikel ausüben können (Abschaltung der Wirtszell-Biosynthese, Synthese von Virusproteinen). Durch Passagen bei niederen Multiplizitäten können die DI-Partikel wieder eliminiert werden.
DI-Partikel sind nicht nur bei Influenzaviren, sondern z.B. auch bei Rhabdo-, Polio-, Herpes- und Papovaviren beschrieben worden. Es handelt sich also um ein bei fast allen RNA- und DNA-Viren vorkommendes, ubiquitäres Phänomen.

Zelltransformation

Verschiedentlich wurde bereits die Transformation der Zelle als mögliche Folge des Virusbefalls erwähnt. Transformation bedeutet, daß die Zelle durch das infizierende Virus zwar nicht getötet wird, sich jedoch – im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der endosymbiotischen Infektion – in ihrem Verhalten grundlegend ändert. Die Veränderungen betreffen u.a. das Wachstumsverhalten (schrankenloses Wachstum, Wachstum ohne Anheftung an eine solide Oberfläche: Verlust der „Anker-Abhängigkeit", in vitro permanent subkultivierbar), die Morphologie, den Chromosomensatz (Aneuploidie), den Stoffwechsel, das Auftreten neuer Antigene (z.B. das für das transformierende Virus spezifische T-Antigen der Papovaviren) und u.U. die Fähigkeit, in isologen oder stark immunsupprimierten Tieren maligne Tumore hervorzurufen. Wegen der letzten Eigenschaft werden die Viren, die Zellen transformieren können, als onkogene Viren oder Tumorviren (s. Kap. 11.13) bezeichnet. Transformation bedeutet aber nicht notwendig die Fähigkeit zum Tumorwachstum im Organismus.
Bei der Transformation wird genetisches Material eines Virus (oft reicht ein Bruchstück des Virusgenoms) nicht selten in das Genom der Wirtszelle integriert, kovalent an die zelluläre DNA gebunden und bei der Zellteilung an die Tochterzellen weitergegeben. Daneben gibt es Fälle, in denen die Virus-DNA extrachromosomal in der Zelle existiert z.B. in Papillomen. Die Schwierigkeit, die Integration des Genoms der RNA-Tumorviren in die zelluläre DNA zu erklären, wurde durch die Entdeckung der reversen Transkriptase überwunden. Auch bei den Retroviren wird das Virusgenom in Form doppelsträngiger DNA integriert (s.o.).
Je nachdem, ob in einem Virus-Zell-System das gesamte Genom des transformierenden Virus realisiert wird oder nur der zur Transformation notwendige Abschnitt, kann es neben der Transformation auch zur produktiven Virusvermehrung kommen.

5.1.9 Virusgenetik

Viren sind für genetische Studien gut geeignet, da das Genom relativ einfach zusammengesetzt ist und da in relativ kurzer Zeit ungeheure Mengen von Viren herangezüchtet werden können.

Insbesondere dem Studium der Phagengenetik verdanken wir die Aufklärung zahlreicher molekularbiologischer Aspekte der Vererbung. Die Genetik animaler Viren ist demgegenüber erst seit ca. 35 Jahren intensiver erforscht worden.
Hier kann nur auf drei Phänomene eingegangen werden, nämlich auf die Mutation, die genetische Rekombination und das „phenotypic mixing".

Mutation

Mutationen treten bei der Vermehrung animaler Viren einerseits „spontan" auf, andererseits können sie durch die Behandlung mit chemischen Substanzen (Mutagene) oder durch UV-Bestrahlung induziert werden.
Die Mutation kann eine Vielzahl von phänotypischen Eigenschaften betreffen, wie Größe und Form der gebildeten Plaques (s. Abb. 5.17), Resistenz gegenüber oder gar Abhängigkeit von Inhibitoren der Virusvermehrung, Antigenität usw.
Züchtet man ein Virus über viele Passagen in den Zellen eines zunächst weniger adäquaten Wirts, so können Mutanten selektioniert werden, die besonders gut an die neuen Wirtszellen „adaptiert" sind. Dadurch kann u.a. auch die Pathogenität für den ursprünglichen Wirt reduziert werden oder sogar verlorengehen. Solche abgeschwächten oder attenuierten Viren spielen eine große Rolle als Lebendimpfstoffe (z.B. Gelbfiebervirus, Poliovirus).
Für die Erforschung der Virusgenetik war insbesondere eine Art sog. konditionell letaler Mutanten von Bedeutung, die **Temperatur-sensitiven (ts)-Mutanten.** Diese Mutanten vermehren sich bei nicht-permissiver Temperatur nicht mehr oder nur gering, z.B. weil das mutierte Gen nun ein Temperatur-sensitives Protein kodiert. Die Bedeutung von ts-Mutanten zur Analyse von Virus-Genfunktionen ist offensichtlich.
Bemerkenswert sind die unterschiedlichen Mutationsraten von DNA- und RNA-Viren. So haben z.B. Picornaviren oder RNA-Bakteriophagen ca. 7500 Basen pro Kopie mehrere Mutationen auftreten. Dies hat auch praktische Bedeutung, z.B. bei der Virusausscheidung von Impflingen, die eine Poliovirus-Lebendvakzine erhalten haben: die ausgeschiedene Viruspopulation ist im allgemeinen weniger attenuiert als die oral verabreichte. Hinzu kommen häufige Rekombinationsereignisse (s.u.), die ebenfalls zur „Instabilität" der Viruspopulation beitragen können. Dieses alles kann eine Gefährdung für ungeimpfte und u.U. immunsupprimierte Kontaktpersonen sein.
Die hohen Mutationsraten von RNA Viren verdienen auch großes theoretisches Interesse. Da kaum eine RNA-Replika der anderen gleicht, bilden sie keinen homogenen Klon, sondern eine Population verschiedener, aber eng verwandter Genotypen, eine „Quasispezies". Kleingenomische RNA-Viren wie Picornaviren replizieren nahe der Schwelle einer Irrtumskatastrophe, d.h. ein zu hoher Anteil von Nukleotid-Fehleinbau führt zu herabgesetzter „Lebens"-fähigkeit bzw. zum „Tod" (Letalmutation).

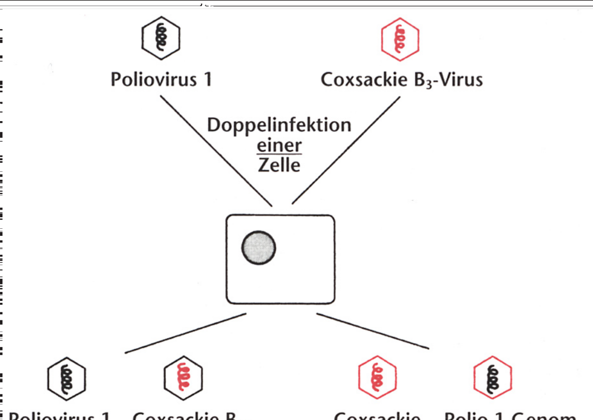
Genetische Rekombination und Reassortion

Zur genetischen Rekombination kann es bei der Doppelinfektion einer Zelle durch zwei verwandte, jedoch genetisch verschiedene Viren kommen. Man versteht darunter den Austausch von genetischem Material zwischen den beiden verschiedenen Virusgenomen, was zum Auftreten neuer Viren mit verändertem Genotyp und entsprechend auch Phänotyp führt.
Die Analyse wurde zunächst analog den Methoden der klassischen Genetik durchgeführt, d.h. es müssen Merkmale (Marker) vorliegen, die eine Differenzierung der Phänotypen der Eltern von denen der Rekombinanten gestatten. Seit ca. 15 Jahren wurde der Nachweis der Rekombination auch biochemisch auf der Ebene der viralen Proteine oder Nukleinsäuren erbracht. Bei Viren, deren genetisches Material aus einem Molekül doppelsträngiger DNA besteht, war es leicht, Rekombinationen nachzuweisen (z.B.

Wiedervereinigung der DNA-Stränge, also in klassischer Weise in reziprokem Austausch. Anders bei RNA-Viren: hier besteht der Rekombinationsmechanismus in Kopiewahl (copy choice), wobei während der Genomreplikation die

Phänotypische Mischung („phenotypic mixing")

Bei der Doppelinfektion einer Zelle durch zwei verschiedene Viren, z.B. Poliovirus 1 und 2



5.1.10 Pathogenese der Virusinfektionen

Das ausgeprägte Interesse der Medizin gilt den Viren nicht nur wegen ihrer biologischen Besonderheiten, sondern vor allem, weil sie Krankheitserreger sind. Man schätzt, daß weit über die

Stich oder Biß von Arthropoden (Arboviren, s.o.), iatrogen durch kontaminiertes Instrumentarium oder durch Transfusion infektiösen Blutes (z.B. Posttransfusions-Hepatitis). Die Übertragung des AIDS-Virus oder von Hepatitis-Viren bei Drogensüchtigen durch kontaminierte Spritzen ist von großer Bedeutung. Nicht uner-

Zellen neue Infektionsherde an weiter entfernten Stellen hervorrufen. Solange es jedoch nicht zu einem Einbruch des Virus in das allgemeine Lymph- oder Blutgefäßsystem kommt, handelt es sich weiterhin um eine lokale Infektion, auch wenn schließlich z.B. alle Abschnitte der Atmungsorgane befallen sind.

Generalisierte Infektion

Bei diesem Infektionsverlauf vermehren sich die Viren zunächst an der Eintrittsstelle und in den regionalen Lymphknoten. Durch die Lymphbahnen und den Blutstrom gelangen Viren dann in weitere Organe **(primäre Virämie).**

Dort kommt es zur erneuten Vermehrung. Häufig erreichen die Viren dann durch eine sog. **sekundäre Virämie** die Organe, in denen sie die für die jeweilige Erkrankung charakteristischen Symptome hervorrufen (Zielorgane).

Als Beispiele für die Entwicklung einer generalisierten Infektion seien – weil erstmals intensiv untersucht – die Pathogenese der Ektromelie (Mäusepocken) (Abb. 5.26) und diejenige der Poliomyelitis (Abb. 5.27) angeführt. Das *Ektromelie-Virus* dringt durch Hautverletzung, z.B. am Fuß, ein, vermehrt sich lokal und führt mit dem Ende der Inkubationszeit zur „primären Läsion“ am Ort des ersten Eindringens, was sich als Schwellung des Fußes manifestiert. Zuvor hat das Virus die regionalen Lymphknoten erreicht und vermehrt sich dort. Mit dem Blutstrom (primäre Virämie) gelangt es u.a. in Milz

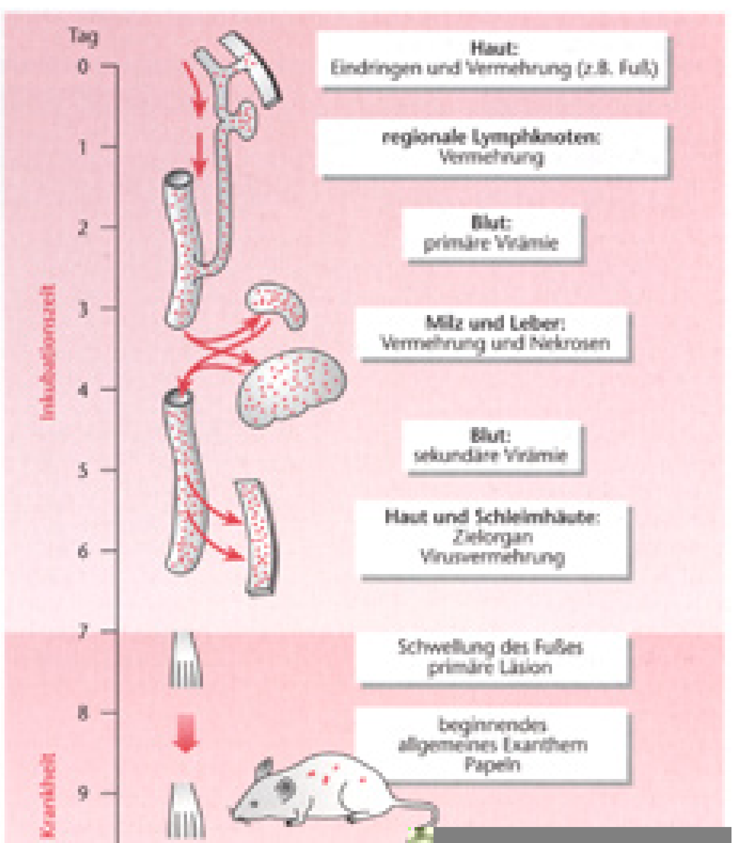


Abb. 5.26 Schematische Darstellung der Pathogenese der Ektromelie (modifiziert nach F. Fenner).

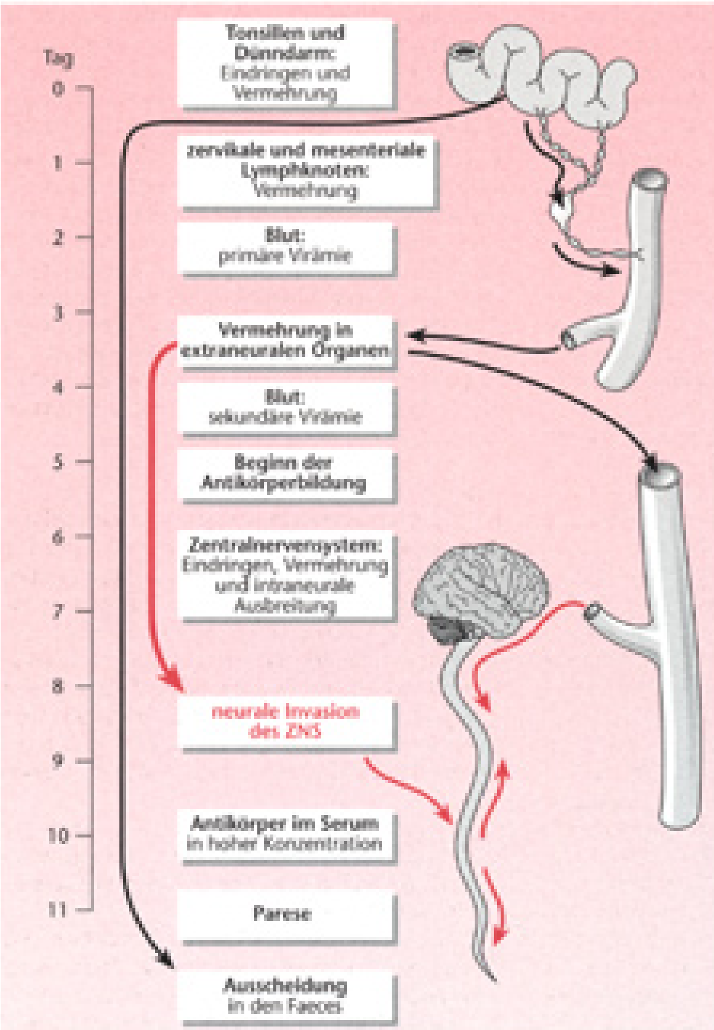


Abb. 5.27 Schematische Darstellung der Pathogenese der Poliomyelitis (nach FENNER, modifiziert auf der Grundlage der Arbeiten von D. BODIAN und A. B. SABIN).

und Leber, wo es sich erneut vermehrt und Ne-
krosen verursacht. Wiederum mit dem Blut (se-

mehrt sich möglicherweise in den Tonsillen, den
„M-Zellen“ (membranöse Zellen oder interdigi-

Neuere Untersuchungen und Überlegungen stützen aber auch das alte Pathogeneseschema SABINS, daß das Poliovirus nicht nur hämatogen, sondern vornehmlich direkt über Nervenbahnen (analog z.B. der Situation bei der Tollwut) in das zentrale Nervensystem gelangt. Ausgangspunkt sind regionale Nervenganglien, die in den verschiedenen, oben angeführten extraneuralen Geweben lokalisiert sind. Für diese These sprechen auch Beobachtungen bei Patienten nach chirurgischen Eingriffen. Wird z.B. bei Kindern, die eine inapparente Polioinfektion durchmachen, eine Tonsillektomie vorgenommen, so kommt es überdurchschnittlich häufig zur bulbären Form der Poliomyelitis. Offenbar wird das im Oropharynx vorhandene Virus mit Nervenendigungen in Kontakt gebracht, die während des chirurgischen Eingriffs freigelegt wurden, und breitet sich nun über die Nervenbahnen in das zugehörige Hirnareal aus.
Die These der neuralen Ausbreitung des Poliovirus wird auch durch die beim „CUTTER"-Unglück erhobenen Befunde gestützt. Hierbei war versehentlich ein unvollständig inaktivierter Impfstoff, der noch vermehrungsfähiges Virus enthielt, intramuskulär injiziert worden. Fast ausnahmslos erkrankten die Patienten zuerst an Lähmungen der Muskelgruppen, in die injiziert worden war.
Während der Virämie ist klinisch oftmals ein sog. „minor illness" (respiratorische und gastrointestinale Beschwerden, leichtes Fieber) vorhanden. In typischen Fällen kommt es dann wieder zur Entfieberung und ein bis drei Tage später setzt mit einem erneuten Fieberanstieg das „major illness" ein mit Kopf- und Muskelschmerzen, Meningismus und evtl. Paresen. Dies ist auf die Vermehrung des Virus im Zentralnervensystem zurückzuführen.

Apparente und inapparente Infektion
Eine Virusinfektion führt bei weitem nicht in allen Fällen zum Vollbild der entsprechenden Viruskrankheit. Oftmals kommt es zu **abortiven Krankheitsverläufen** (z.B. nur „minor illness" bei einer Polioinfektion). Werden durch die Virusinfektion keine Krankheitserscheinungen hervorgerufen, spricht man von einer **inapparenten Infektion.**
Während Masern und Pocken fast immer mit klinischen Symptomen einhergehen (apparente Infektion), verlaufen etwa 50% der Rötelninfektionen und 90–99% der Polio- und Herpesvirus Typ 1-Infektionen inapparent.
Auch bei der inapparenten Infektion kommt es zur Virusvermehrung, jedoch werden z.B. krankheitskritische Konzentrationen nicht erreicht oder die systemische Virusausbreitung bleibt begrenzt (z.B. bei der inapparenten Poliovirusinfektion). Es ist aber zu bedenken, daß z.B. eine für die Mutter inapparente Rötelninfektion in den ersten Monaten der Schwangerschaft eine gravierende Gefährdung des Föten darstellt (Abort, Mißbildungen). Verständlicherweise werden auch beim inapparenten Verlauf Antikörper gebildet, die eine langdauernde Immunität bewirken können **(stille Feiung).**
Inapparent Infizierte sind eine besonders wichtige und bedrohliche – weil unerkannte – Infektionsquelle.

Viruspersistenz
Wird das Virus vom infizierten Wirt nicht eliminiert, so kommt es zur Viruspersistenz. Hierbei können auf der Ebene des Zellverbandes oder der Einzelzelle mindestens drei Formen der Virus-Wirt-Beziehung unterschieden werden:
a) Es findet ständig eine geringgradige Virusvermehrung statt; die infizierten Zellen gehen zugrunde. Diese **chronische Infektion** muß nicht mit Krankheitssymptomen einhergehen, da jeweils nur wenige Zellen betroffen sind.
b) Es wird ebenfalls ständig infektiöses Virus gebildet; die infizierte Zelle wird hierdurch jedoch anscheinend nicht geschädigt **(endosymbiotische Infektion).**
c) Es ist kein infektiöses Virus nachweisbar. Das Virusgenom ist entweder in das Zellgenom integriert oder persistiert in episomaler Form **(latente Infektion).** In latenter Form persistiert z.B. das Varizellenvirus in Ganglienzellen.

Bei einer latenten Infektion kann es aus noch weitgehend unbekannten Gründen zu einer Reaktivierung des Virus kommen, die apparent oder auch inapparent verlaufen mag. Das bekannteste Beispiel für solche Reaktivierungen sind der rezidivierende Herpes labialis und genitalis, sowie der Zoster als (eine immer endogene?) Reaktivierung einer latent gewordenen Varizellen-Infektion.
Immungeschwächte Patienten (z.B. zytostatische Therapie bei Tumorpatienten oder bei Transplantationen, AIDS-Patienten) erleiden häufig eine z.T. lebensbedrohliche Reaktivierung von Viren der Herpesgruppe (generalisierter Herpes, generalisierter Zoster, Zytomegalie-

infektionen). Dies legt den Schluß nahe, daß ein intaktes Immunsystem Virusreaktivierungen unterdrückt.
Die Unterscheidung zwischen latenter und chronischer Infektion wird nicht immer gerechtfertigt sein. Ob auch bei der latenten Infektion komplettes, infektiöses Virus in ganz geringen Mengen gebildet wird, die sich dem experimentellen Nachweis entziehen, ist bis jetzt nicht in jedem Fall sicher zu klären. Außerdem sind Zwischenstufen in dem Sinne möglich, daß es z.B. in der infizierten Zelle zu einer partiellen Expression von Virusprotein kommt. Auf der Ebene des Organismus spricht man ebenfalls von Viruspersistenz, unabhängig davon, welche Vorgänge im Zellverband oder in der Einzelzelle ablaufen.

Rolle des Immunsystems bei der Pathogenese von Virusinfektionen

Daß Reaktionen des Immunsystems für die Pathogenese von Viruskrankheiten bedeutsam sein können, läßt sich am Beispiel der Infektion der Maus mit dem Virus der Lymphozytären Choriomeningitis (LCM-Virus) aufzeigen. Wird eine erwachsene Maus mit diesem offensichtlich nicht zytozidalen Virus intrazerebral infiziert, so erkrankt sie schwer, meist tödlich. Wird jedoch die Immunreaktion unterdrückt, z.B. durch Röntgenbestrahlung oder Gabe von Antilymphozytenserum, so überleben die Tiere, obwohl sich das Virus zu hohen Konzentrationen in allen Organen vermehrt. Insbesondere $CD8^+$ T-Zellen scheinen für die letale Reaktion verantwortlich zu sein, wie Experimente mit adoptivem Transfer von Immun-T-Zellen zeigen.
Versuche an in utero mit LCM-Virus infizierten Mäusen erweitern dieses Bild. Auch in solchen Tieren kommt es zur Virusvermehrung, sie entwickeln jedoch eine immunologische Toleranz gegenüber dem LCM-Virus und überleben in hohem Prozentsatz. Die Toleranz ist nicht vollständig: geringe Mengen von Antikörpern werden gebildet, verbinden sich unter Beteiligung von Komplement mit dem Virus zu Immunkomplexen, die in den Nieren der Tiere akkumulieren und dort eine Immunkomplex-Nephritis hervorrufen können.
Immunologische Vorgänge scheinen auch bei der Pathogenese von Viruskrankheiten des Menschen eine nicht unerhebliche Rolle zu spielen, so z.B. bei der Hepatitis B und Hepatitis C, den sog. parainfektiösen Enzephalitiden. Auch die schwer verlaufenden Infektionen mit Masernvirus nach einer vorangegangenen Immunisierung mit einer heute nicht mehr zugelassenen inaktivierten Masernvakzine werden auf immunpathologische Prozesse zurückgeführt. Ähnliche Erfahrungen hat man nach der Verabreichung einer Vakzine aus inaktiviertem RS-Virus gemacht. Inwieweit Viruskrankheiten durch die Induktion „autoimmunologischer" Prozesse oder durch Immunkomplexe aus Virusantigenen und spezifischen Antikörpern eine Rolle bei Krankheiten mit noch unbekannter Ätiologie spielen, bedarf der weiteren Klärung.

„Slow Virus"-Infektionen

Bei manchen Infektionen vergeht eine ganz ungewöhnlich lange Zeit (z.T. mehrere Jahre) zwischen der Infektion und dem Auftreten der ersten Krankheitssymptome. Außerdem ist der Krankheitsverlauf schleppend, aber unaufhaltsam progredient. Sie werden als „Slow Virus"-Infektionen bezeichnet. Klinisch handelt es sich um eine Reihe von degenerativen oder entzündlichen Erkrankungen, besonders des ZNS bei Tier und Mensch. Zum Teil entsprechen die ätiologischen Agenzien dem klassischen Virusbegriff (z.B. das Virus der subakuten sklerosierenden Panenzephalitis, s. Kap. 6.16), zum Teil verhalten sie sich jedoch ganz ungewöhnlich (z.B. die Erreger von Kuru, der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit oder des „Rinderwahnsinns" und der neuen Variante der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit (nvCJD)). Ungewöhnlich heißt, daß durch intrazerebrale Übertragung auf empfängliche Versuchstiere der Erreger zwar nachgewiesen werden kann, daß es sich um ultraflitrierbare und vermehrungsfähige Agenzien handelt, daß aber alle übrigen Methoden der Virologie wie Zellkultur, Elektronenmikroskopie und Immunologie bei ihnen versagen. Eine Immunantwort auf die Infektion des Wirts ist bislang nicht nachweisbar. Erreger des letztgenannten Typs werden heute als Prionen („proteinaceous infectious particle") bezeichnet (s. „Prionkrankheiten", Kap. 6.21).

Virusinduzierte Tumoren

Im Jahre 1911 entdeckte Peyton Rous, daß zellfreie Extrakte von Hühnertumoren nach Injektion in gesunde Hühner in diesen zu neuen Tumo-

das kausale Agens ein Tumorvirus war: offenbar war ein kleines Genom in der Lage „Krebs", präzise ein Sarkom, zu erzeugen. Diese Entdeckung war Ausgangspunkt fruchtbarster Forschung, die tiefe Einblicke in das „Krebsproblem" gewährte. Tumorviren enthalten kleine genetische Elemente, Onkogene, die die Zelltransformation bewirken (s. Kap. 11.13: Onkogenese).

Schlußbetrachtung

Das komplexe Kapitel „Pathogenese" ist hiermit keineswegs erschöpfend behandelt und verstanden. Auf den Abschnitt zur molekularen Pathogenese des zytopathischen Effekts (unter Kap. 5.1.6) sei noch einmal verwiesen, damit neben dem Eintritt und der Ausbreitung eines Virus im Organismus die Elementarereignisse auf zellulärer Ebene nicht vernachlässigt werden, von der Komplexizität immunologischer Prozesse gar nicht zu reden. Darüber hinaus sei noch einmal daran erinnert, daß Rezeptoren der Zelloberfläche zwar eine conditio sine qua non des „Organtropismus" eines Virus sind, ihr Vorhandensein allein aber nicht ausreicht, die Ausbreitung eines Virus im Organismus zu erklären.

5.1.11 Abwehr viraler Infektionen

Im Laufe der Evolution hat sich eine Reihe von Abwehrmechanismen gegen Virusinfektionen herausgebildet. Ihnen ist es zu verdanken, daß Virusinfektionen eines Makroorganismus im allgemeinen nicht zum Tod des Wirts führen. Die

Antikörper

Antikörper haben für die Terminierung einer Virusinfektion und für die Eliminierung der Viren vielleicht nur teilweise Bedeutung. Dies wird daraus ersichtlich, daß Menschen mit einem Antikörpermangel-Syndrom, aber intakter zellvermittelter Immunität, bestimmte Virusinfektionen gut überstehen können.

Eine wichtige Aufgabe der Antikörper besteht – teleonomisch ausgedrückt – in der **Verhinderung erneuter Infektionen** durch das gleiche Virus. Dies wird durch *neutralisierende Antikörper* bewirkt, die gegen Antigene an der Virusoberfläche gerichtet sind. Die neutralisierenden Antikörper können u.a. die Adsorption des Virus an die Zelle verhindern. Dies ist z.B. augenfällig für Antikörper, die gegen das Hämagglutinin des Influenzavirus gerichtet sind, denn selbstverständlich erlaubt nur ein nicht blockiertes Hämagglutinin die initiale Adsorption des Viruspartikels an den Glykoproteinrezeptor der Zelle. Virusneutralisation wird aber nicht nur durch Blockade der Adsorption bewirkt, sondern vermutlich auch durch antikörperinduzierte Konformationsänderungen des Viruspartikels und Hemmung des Virus-Uncoating. Darüber hinaus gibt es Berichte, daß antiviral wirksames Antiserum Poliovirus-infizierte Neuroblastom-Zellen schützt, obwohl die Virusvermehrung nicht blockiert wird.

Viele Viren dringen über die Schleimhaut des Atmungs- oder Verdauungstraktes in ihren Wirt ein. Zur Abwehr dieser Infektionen ist die sog. lokale Immunität der Schleimhaut ausschlagge-

Zell-System zu, so noch mehr für die Infektion eines Organismus. Dieser Sachverhalt erinnert daran, daß 5 x 10^6 Spermien im Ejakulat als Ausdruck relativer Infertilität angesehen werden, obwohl theoretisch *ein* Spermium zur Befruchtung der Eizelle ausreicht. Mannigfache Gründe sind dafür verantwortlich, daß es den meisten der Partikel nicht gelingt, ihr Ziel zu erreichen.
Viren haben ein begrenztes Wirtsspektrum. Dies kann z.B. daran liegen, daß den Zellen des resistenten Organismus für die Virusadsorption notwendige Rezeptoren fehlen. So sind z.B. im allgemeinen nur Primaten durch Poliovirus infizierbar, Zellen anderer Spezies fehlen die Rezeptoren für das Virus. Daß darüber hinaus das Wirtsspektrum eines Virus von weiteren Faktoren abhängen kann, ist nach der Komplexität des Vorgangs nicht anders zu erwarten.
Das im Verlauf einer Virusinfektion auftretende Fieber kann die Virusvermehrung reduzieren. Dies kann durch die Blockierung eines Temperatur-sensitiven Schritts bei der Vermehrung oder durch eine erhöhte Interferon-Produktion geschehen.
Mukoproteine im Sekret des Respirationstraktes können mit Influenzaviren reagieren und diese „neutralisieren“. Ob dadurch eine Infektion verhindert werden kann, wird u.a. von quantitativen Relationen abhängen, da die Neuraminidase des Virus die Mukoproteine rasch hydrolysiert.
Auch andere, im Serum vorkommende Globuline und Lipoproteine sollen manche Viren „neutralisieren“ können. Die β-Lipoproteine, die die Hämagglutination durch das Rötelnvirus zu hemmen vermögen, können die Infektion durch das Virus jedoch nicht verhindern.
Faktoren wie Ernährungszustand, hormonelle Situation (Schwangerschaft), Alter, „Streß“ usw. können die Empfänglichkeit gegenüber manchen Viren beeinflussen. So verlaufen z.B. die Masern bei den unterernährten Kindern West-Afrikas ganz besonders schwer. In der Schwangerschaft sind paralytische Verläufe einer Poliomyelitis und Komplikationen einer Influenza (Pneumonie) häufiger als bei Nichtschwangeren. Einen besonders dramatischen und bislang nicht verstandenen Effekt hat die Schwangerschaft auf den Verlauf der Hepatitis E mit einer Letalität von ca. 20% gegenüber einer solchen von 1% bei der Normalbevölkerung. Kortison erhöht die Empfänglichkeit für manche Viren (Zytomegalievirus, Varizellenvirus). Beim Jugendlichen und Erwachsenen verläuft die Poliomyelitis zumeist schwerer als beim Kind, umgekehrt ist eine Infektion mit dem Respiratory Syncytial Virus beim Erwachsenen harmlos, beim Säugling oft deletär.

5.1.12 Prophylaxe und Therapie von Virusinfektionen. Allgemeine Hinweise

Wegen der engen Verknüpfung von Virusreplikation und Wirtszellstoffwechsel ist eine spezifische antivirale Chemotherapie prinzipiell schwieriger als bei anderen Infektionskrankheiten (s. Kap. 5.2, „Antivirale Therapie“). Zur Zeit ist in der Tat das Spektrum der beim Menschen anwendbaren antiviralen Substanzen noch eingeschränkt, wird aber zunehmend, z.T. dramatisch erweitert. Aufgrund der bislang noch immer begrenzten therapeutischen Möglichkeiten kommt prophylaktischen Maßnahmen bei der Bekämpfung von Virusinfektionen eine besonders große Bedeutung zu.

Expositionsprophylaxe

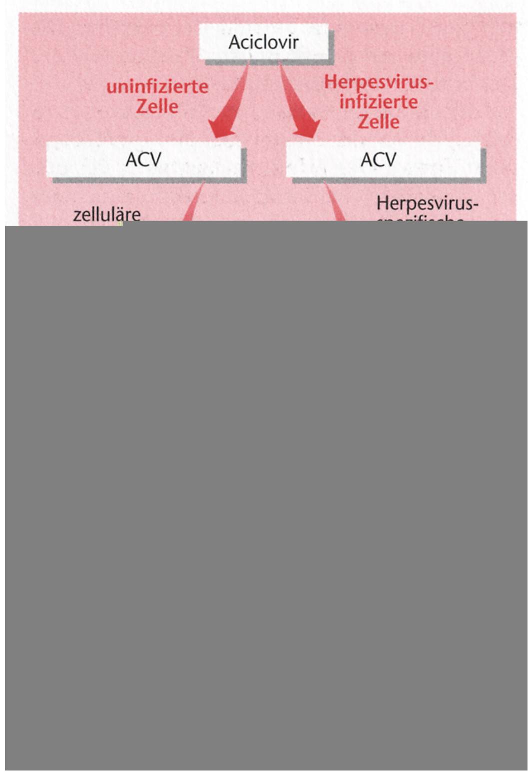
Hierunter versteht man, daß empfängliche, also nichtimmune Personen, einer Ansteckungsgefahr aus dem Wege gehen. Dies kann z.B. dadurch geschehen, daß eine schwangere Kindergärtnerin ohne Rötelnimmunität ihren Dienst in den besonders gefährdeten ersten 4 Monaten der Schwangerschaft nicht versieht, oder aber dadurch, daß eine fraglich infizierte Masern-Kontaktperson 2 Wochen in **Quarantäne** gehalten wird. Rein theoretisch können Viren, die *nur* den Menschen befallen, für die es also keine extrahumanen Reservoire gibt, durch eine weltweite Expositionsprophylaxe ausgerottet werden. Blieben z.B. alle Menschen 14 Tage lang unter Vermeidung aller Kontakte allein, so gäbe es wahrscheinlich außer beim Virologen kein Masernvirus mehr, da das Masernvirion außerhalb eines infizierten Organismus sehr labil ist, und das Virus der subakuten sklerosierenden Panenzephalitis (s. Kap. 6.16) nicht infektionstüchtig ist und nicht ausgeschieden wird.

Immunprophylaxe

Aktive Immunisierung

Die Entwicklung von Impfstoffen gegen Virusinfektionen und die dadurch erreichte Beseitigung der Pocken und Eindämmung der Poliomyelitis in den Industrieländern und zunehmend auch in unterpriviligierten Ländern gehört zu

5

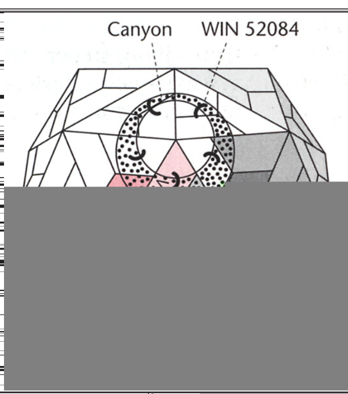

Aciclovir
uninfizierte Zelle
Herpesvirus-infizierte Zelle
ACV
ACV
zelluläre
Herpesvirus-

virusspezifischen Molekül, der Herpesvirus-DNA-Polymerase, die Produktion der essentiellen Virus-DNA unterbindet.
Es ist begreiflich, daß die Forschung der letzten Jahre intensiv der Chemotherapie von AIDS gewidmet war. Der Vermehrungszyklus des HIV (s. Kap. 6.20) bietet mit den zahlreichen virusspezifischen Prozessen theoretisch genügend Angriffspunkte für eine Chemotherapie (s. Kap. 5.2, „Antivirale Therapie“).
Besonders anschaulich kann das Wirkprinzip selektiver antiviraler Substanzen am Beispiel der sogenannten **Kapsid-bindenden Inhibitoren** dargestellt werden. So wie die Virusoberfläche vom Immunsystem des Organismus als fremd

das „Uncoating“ blockiert. Der Kapsid-bindende Inhibitor Pleconaril wird inzwischen bei Picornavirusinfektionen klinisch eingesetzt (s. Kap. 5.2).
Heute kann – zumindest experimentell – fast jeder Schritt der Virusvermehrung spezifisch gehemmt werden. Immer wieder ist die Selektivität der Wirkung auf die Interaktion der Substanz mit einem virusspezifischen Molekül zurückzuführen.

Resistente Virusmutanten

Schon Anfang der sechziger Jahre war in einem experimentellen Zellkultursystem das Auftre-



pes simplex Infektion auf eine wiederholte ACV-Therapie nicht mehr ansprachen, wurden ACV-resistente Herpes simplex Virusstämme isoliert. Die biochemische Grundlage der ACV-Resistenz ist erwartungsgemäß

1. eine durch Mutation veränderte oder fehlende Herpes simplex Virus-Thymidinkinase oder
2. eine mutierte virale DNA-Polymerase,

wobei die erste Klasse von Mutanten in der Praxis ganz überwiegt. Es sind also diejenigen Enzyme verändert, die Schlüsselenzyme für die antivirale Wirksamkeit des ACV sind (s. Abb. 5.30 und Kap. 5.2, „Antivirale Therapie").

Besonders anschaulich zu machen ist die molekulare Basis der Resistenz bei den Kapsid-bindenden Inhibitoren. Eine Mutation in Position 199 des Polypeptids VP1 von Rhinovirus Typ 14 (s. Abb. 5.31) mit dem Austausch der Aminosäure Cystein (CYS 199) durch Tyrosin führt zu einer Blockade des Eingangs in die hydrophobe Tasche unter dem Canyonboden: das Virus ist gegen WIN 52084 resistent geworden. Resistente Virusmutanten treten „spontan" auf, ohne daß sie je dem entsprechenden Pharmakon exponiert waren. Unter einer antiviralen Therapie haben sie Selektionsvorteile, sie „wachsen aus". Es folgt

Wie in der bakteriellen Chemotherapie wird man beim Auftreten von resistenten Virusmutanten versuchen, ein Virustatikum mit anderem Wirkungsmechanismus anzuwenden. Dies ist mit Erfolg bei ACV-resistenten Herpes simplex-Virusstämmen und bei Ganciclovir-resistenten Zytomegalieviren durch Phosphonoameisensäure (Foscarnet, Foscavir®) geschehen.

Einige prinzipielle Probleme der antiviralen Chemotherapie

Ein wesentliches Problem der antiviralen Chemotherapie ist die Entwicklung neuer antiviraler Substanzen durch gezieltes Design. Trotz aller Fortschritte der Molekularbiologie sind wir noch weit davon entfernt, Substanzen nach Maß schneidern zu können.

Das begrenzte Virusspektrum der einzelnen Substanzen verlangt einen gezielten Einsatz, der aus verständlichen Gründen so früh wie möglich im Krankheitsverlauf erfolgen sollte. Falls eine Diagnose klinisch nicht möglich ist, ist eine schnelle Laboratoriumsdiagnose erforderlich. Diesem Ziel sind wir heute entschieden näher als noch vor wenigen Jahren (z.B. PCR und Frühantigene von CMV).

derte Interferone eingesetzt werden können. Signifikante Erfolge durch IFN-Therapie wurden bei der chronischen Hepatitis B und C nachgewiesen. Ein prospektives Anwendungsgebiet schienen auch die sog. banalen Infektionen des oberen Respirationstrakts zu sein. Wirkung, Nebenwirkungen und Kosten stehen aber bislang in keinem vertretbaren Verhältnis zueinander.
Es soll noch einmal erwähnt werden, daß Interferone in der Tumortherapie eingesetzt werden (Hemmung der Zellteilung, immunologische Effekte). So wurden z.B. bedeutende Erfolge mit der IFN-Therapie der Haarzell-Leukämie und des KAPOSI-Sarkoms erzielt.
In den für den klinischen Einsatz erforderlichen Dosen haben die Interferone z.T. erhebliche Nebenwirkungen, wie Fieber, schweres grippeähnliches Unwohlsein mit Muskelschmerzen, Hypotonie und Tachykardie. Sie mögen bei lebensbedrohlichen oder schweren Krankheiten in Kauf genommen werden.

5.1.13 Laboratoriumsdiagnose von Virusinfektionen

Prinzipiell stehen zwei verschiedene Wege zur Verfügung, um die Infektion eines Menschen (und natürlich auch eines Tieres) durch ein bestimmtes Virus nachzuweisen: einmal kann der **Erregernachweis** versucht werden (Nachweis des Erregers selbst oder von erregerspezifischem Material) und zwar entweder direkt in dem vom Patienten gewonnenen Untersuchungsmaterial (direkter Virusnachweis), oder durch Anzüchtung und Identifizierung des Virus aus geeigneten Proben (Virusisolierung). Der zweite und in der Praxis noch sehr häufig eingeschlagene Weg ist der **Nachweis spezifischer Antikörper** im Serum des Erkrankten. Mit all die-

schnelle Verdachtsdiagnose dieser Infektionskrankheiten. Ebenfalls durch Elektronenmikroskopie können Erreger von Säuglingsdyspepsien, z.B. Rota- und Coronaviren, in Stuhlproben nachgewiesen werden.
Zunehmend setzt sich zum direkten Virusnachweis das **ELISA-Verfahren** durch (s. Abb. 5.14: *beachte:* hier wurde der ELISA im Rahmen der Virusisolierung in der Zellkultur eingesetzt und Abb. 5.33), wobei mit einem bekannten, spezifischen Antiserum nach dem Erreger gefahndet wird, z.B. Rotaviren oder Erreger respiratorischer Erkrankungen (Adenoviren, RS-Viren etc.).
Auch mit Hilfe der **Immunfluoreszenz** können virale Antigene in den Zellen von Biopsie- oder Autopsieproben nachgewiesen werden. Diese Methode spielt z.B. für den Tollwutnachweis beim verdächtigen Tier eine wichtige Rolle.
Auf die Möglichkeit, einen direkten Virusnachweis durch **gentechnische Verfahren** zu führen, wurde schon ausführlich hingewiesen (s. Kap. 5.1.6). Die kaum zu überschätzende Bedeutung der PCR und der verschiedenen Nukleinsäure-Hybridisierungsverfahren sei noch einmal betont.

Isolierungsversuch

Hierzu werden Untersuchungsproben (Rachenspülflüssigkeit oder -abstriche, Urin, Liquor, Stuhl, Bläscheninhalt usw.), eventuell nach einer Vorbehandlung, in Zellkulturen, Bruteier oder Versuchstiere inokuliert. Für die Auswahl des geeigneten Nachweissystems benötigt der Virologe möglichst ausführliche Angaben über die klinischen Symptome und die Verdachtsdiagnose.
Weisen verdächtige Symptome oder der Tod des

gung *aller* klinischen und Laborbefunde mehr denn je gefragt, um Schaden vom Patienten fernzuhalten und ihm optimal zu helfen.
Nicht zuletzt ist der **Immunoblot (Western Blot)** aufzuführen, ein unentbehrliches Instrument zur Diagnose z.B. der HIV- und Hepatitis C-Virusinfektionen (s. Untersuchungsverfahren).

Einsendung von Untersuchungsmaterial

Die Hauptdomäne der virologischen Diagnostik sind akute Erkrankungen. Die Isolierung der meisten Viren gelingt nur in den ersten Tagen nach Krankheitsbeginn. Sie ist dann aber die überlegene Methode. Zur Isolierung müssen Materialien, deren Auswahl sich nach der Art des vermuteten Virus oder auch nach den Krankheitssymptomen richtet, so schnell wie möglich und gekühlt *(nicht* eingefroren) ins virologische Laboratorium gebracht werden. Bei Abstrichen muß ein Austrocknen der Probe (notfalls durch Zusatz steriler physiologischer Kochsalzlösung) verhindert werden. Nasopharynxsekrete (mit speziellen Apparaturen optimal zu gewinnen) sind insbesondere bei respiratorischen Erkrankungen eine wichtige Quelle zum Virusnachweis. Im allgemeinen stellen virologische Institute *Abstrichbestecke* mit einem sog. *Transportmedium* (Zellkulturmedium mit Zusatz von Protein und Antibiotika) auf Anforderung zur Verfügung. Die Einsendung mehrerer aufeinander folgender Proben erhöht die Isolierungschance!
Für die **serologische Diagnose** ist die Einsendung zweier Blutproben *(Akutprobe* und *Rekonvaleszentenprobe)* notwendig. (Akutprobe immer auf Verdacht entnehmen: Voraussetzung für den Nachweis eines „Titeranstiegs"). Es genügen jeweils ca. 5 ml Nativblut ohne Zusätze, die in sterilen Röhrchen verschickt werden. Die Schnelligkeit des Transports spielt hier ebenso wie die Kühlung keine besondere Rolle (Voll-

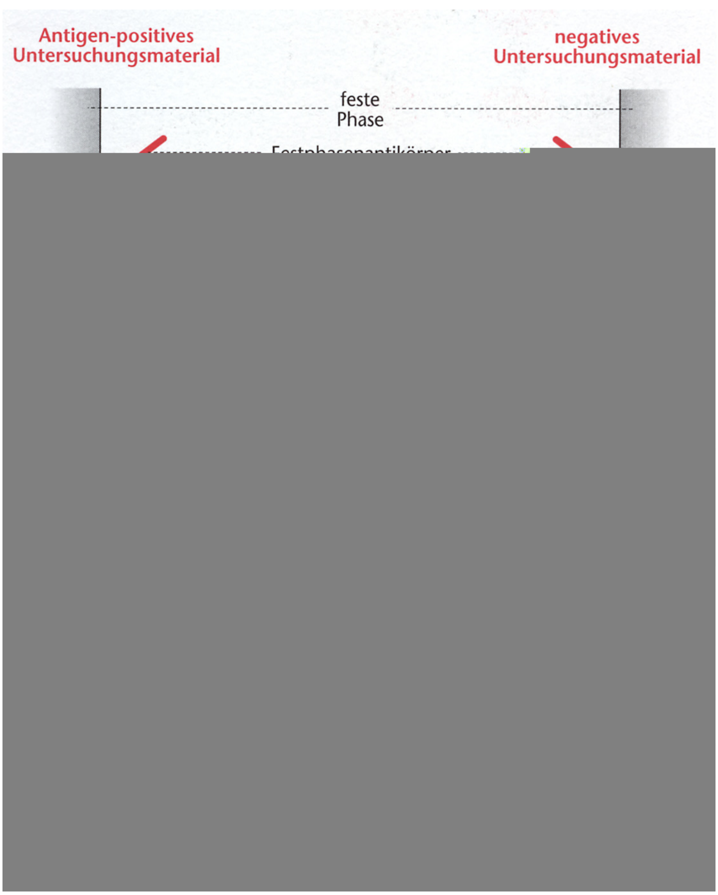


Abb. 5.33 Schematische Darstellung des Prinzips eines Festphasen-RIA bzw. -ELISA am Beispiel des HBsAg-Nachweises.

blut jedoch nie einfrieren, Hämolyse!). Ist die Probe mehrere Tage unterwegs, empfiehlt es sich wegen der sonst eintretenden Hämolyse, Serum statt Vollblut einzuschicken.
Die Anforderung an das Laboratorium sollte spezifiziert sein. Anforderungen wie „KBR auf Viren“ oder „Virusserologie“ zeugen von Ignoranz und mangelnder Disziplin des Einsenders. Stets sollten auf dem Begleitschein Angaben über Krankheitsbeginn, die wichtigsten Symptome, die klinische Verdachtsdiagnose und etwa bekannte Kontaktfälle enthalten sein, d.h. **es sollte das diagnostische Problem formuliert werden.** Falls irgendwelche Unsicherheiten über die Auswahl des geeigneten Materials, seinen Versand und die Anforderung an das Labor bestehen, sollte man sich nicht scheuen, dort anzufragen.
Andernfalls kommt es häufig zu einer Flut überflüssiger Untersuchungen, die dem Patienten wenig nutzen und der Allgemeinheit ökonomisch nicht zugemutet werden können.

Literatur

Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J. D. Watson: Molecular Biology of the Cell, 3rd ed., Garland Publ., Inc., New York – London 1994, Deutsche Übersetzung „Molekularbiologie der Zelle“, 2. Aufl. VCH, Weinheim 1990.

Belshe, R. B. (ed.): Textbook of Human Virology, 2nd ed., Mosby Year Book Inc. 1991.

Burnet, MacFarlane, and D.O. White: Natural History of Infectious Disease, 4th ed., Cambridge Univ. Press 1972.

Eggers, H. J: Antivirale Chemotherapie. Resistente Virusmutanten und das Problem des Designs neuer Pharmaka. Dtsch. Ärztebl. 88, A 2793–2802, 1991.

Fields, B. N.: Virology. 3rd ed., Lippincott-Raven Publ., Philadelphia 1996.

Flint, S. J., L. W. Enquist, R. M. Krug, V. R. Racaniello, A. M. Skalka: Virology. Molecular Biology, Pathogenesis, and Control. ASM Press, Washington D.C., 2000.

Giesecke, J.: Modern Infectious Disease Epidemiology, Edw. Arnold, London 1994.

Granoff, A., and R. G. Webster (eds.): Encyclopedia of Virology. 2nd ed., Academic Press, London 1999.

Janeway, Ch. A., P. Travers, M. Walpert and J. D. Capra: ImmunoBiology, 4th ed., Current Biology Publications, London – New York 1999.

Lewin, B.: Genes VI, 6th ed., Oxford University Press 1997.

Mandell, G. L., J. E. Bennett, R. Dolin (eds.): Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed., Churchill Livingstone, 2000.

Quast, Ute: 100 und mehr knifflige Impffragen, 4. Aufl., Hippokrates Verlag, Stuttgart 1998.

Quast, Ute, Waltraud Thilo und R. Fescharek: Impfreaktionen, 2. Aufl., Hippokrates Verlag, Stuttgart 1997.

van Regenmortel, M. H. V., C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop (eds.): Virus Taxonomy. Seventh Report of The International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego, 2000.

Stryer, L.: Biochemistry. 4th ed., W. H. Freeman and Co., New York 1995.

5.2 Antivirale Therapie

Thomas Mertens, Lutz von Müller

Überblick

Die Vermehrung eines Virus ist immer von Strukturen und Funktionen einer Wirtszelle abhängig. Dies betrifft sowohl die Bereitstellung von molekularen Bausteinen (z.B. Nukleotiden, Aminosäuren, Zuckern) als auch die parasitäre Nutzung von Funktionseinheiten und Enzymsystemen der Wirtszelle in bestimmten Kompartimenten (z.B. Transkriptionseinheiten bei DNA-Viren, Ribosomen zur Translation viraler mRNA, Mitochondrien als Energielieferanten, etc.).
Wenngleich viele antivirale Substanzen durch Screening-Untersuchungen in Zellkulturen entdeckt worden sind, erfordert die Weiterentwicklung der antiviralen Therapie detaillierte Kenntnisse der essentiellen viralen Funktionen, durch deren Inhibition eine möglichst selektive Hemmung der Virusreplikation erreicht werden kann. Eine hohe Virusselektivität bedeutet *in vitro* gute antivirale Wirkung ohne Zelltoxizität und klinisch gute therapeutische Wirkung bei minimalen unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW). Leider bedeutet eine gute antivirale Wirksamkeit in Zellkultur noch nicht, daß die Substanz auch beim Menschen Anwendung finden wird; vielmehr gelangt nur ein Bruchteil der *in vitro* wirksamen Substanzen in die Klinik.
Die *sehr unterschiedlichen Replikationsstrategien* verschiedener Viren haben bislang die Entwicklung eines „antiviralen Breitbandtherapeutikums“ nicht zugelassen. Während für die Therapie von Retroviren (HIV), Influenzaviren, Hepatitisviren und einigen Herpesviren bereits sehr wirksame antivirale Substanzen zur Verfügung stehen, sind die therapeutischen Möglichkeiten bei anderen Viren noch sehr begrenzt.

Bei der Entwicklung neuer antiviraler Substanzen sind Zellkulturen und Infektionsmodelle im Tierversuch für pharmakologisch-toxikologische Studien sehr wichtig und eine Voraussetzung für klinische Therapiestudien. Für wichtige Hepatitiserreger (z.B. HBV, HCV) existieren lediglich Modelle mit Analogie zur HBV- oder HCV-Infektion, was die Entwicklung spezifischer antiviraler Substanzen erschwert. Patienten mit chronischer Virushepatitis profitieren aber mittlerweile von Medikamenten, die primär für die Behandlung anderer Virusinfektionen entwickelt wurden (z.B. Lamivudin, Adefovir, Ribavirin).

Die verschiedenen Möglichkeiten der Inhibition spezifisch viraler Funktionen ergeben sich aus den Replikationszyklen der Viren. Mit den Prozessen der Adsorption, der Penetration, des Uncoating, der Synthese von Virusbestandteilen (Proteine, Nukleinsäuren), der „Virusreifung“ und der Virusfreisetzung, aber auch der Synthese regulatorischer viraler Proteine sind virusspezifische Funktionen verknüpft, die als Ziele einer antiviralen Therapie dienen können. Einige Angriffspunkte sind in Tab. 5.6 zusammengefaßt.

Die Einteilung nach ihrem Ziel im Vermehrungszyklus der Viren ermöglicht auch die Unterscheidung in Substanzen, die früh oder spät hemmend in die Virusreplikation eingreifen. Die Kenntnis unterschiedlicher Wirkmechanismen erleichtert die Planung der Kombination verschiedener antiviraler Substanzen bei der Therapie.

Alle verfügbaren antiviralen Medikamente wirken ausschließlich während der intrazellulären Virusreplikation oder bei frühen Prozessen der Virusinfektion. Die therapeutische Beeinflussung latent virusinfizierter Zellen (HSV in Ganglienzellen) mit dem Ziel der Elimination der Virusgenome ist bislang ebensowenig möglich wie die Behandlung virustransformierter Zellen (EBV-induziertes lymphoproliferatives Syndrom) durch antivirale Pharmaka. Mit zunehmendem Wissen über die molekularen Grundlagen von Viruslatenz und Virusreaktivierung sollte es jedoch möglich werden, auch auf diese Vorgänge therapeutisch einzuwirken.

Probleme der antiviralen Therapie ergeben sich bei besonders schnell replizierenden Viren, wenn deren Vermehrung den eigentlichen Krankheitssymptomen häufig schon um Tage vorausgeht. Zahlreiche Symptome viraler Erkrankungen entstehen zudem nicht allein durch die Virusreplikation selbst, sondern durch zelluläre (Hepatitis B-Virus) und humorale (Denguevirus) Immunreaktionen des Wirtsorganismus oder durch Freisetzung von Zytokinen (z.B. Entstehung der Rhinitis bei Rhinovirusinfektion durch Aktivierung des Bradykininsystems).

Der Aufbau einer spezifischen antiviralen Immunität ist auch im Zeitalter der antiviralen Chemotherapie unerläßlich für das Überleben des Organismus. Eine besondere Bedeutung hat in diesem Zusammenhang der Einsatz aktiver Schutzimpfungen. Passiv verabreichte (Hyper-) Immunglobulinpräparate sind bei bereits manifester Infektion generell nicht wirksam, jedoch gehören diese in Kombination mit Ganciclovir bei der CMV-Pneumonitis bei Patienten nach Knochenmarktransplantation zur Therapie der Wahl. Als Postexpositionsprophylaxe ist die passive Immuntherapie bei bestimmten Indikationen sinnvoll (z.B. Neugeborene HBs-Antigen positiver Mütter, Postexpositionsprophylaxe Immunsupprimierter nach VZV-Exposition). Sogar eine aktive Immunisierung kann in bestimmten Situationen postexpositionell eingesetzt werden (s. Kap. 12). Die einzig etablierte immunmodulatorische antivirale Therapie, die Alpha-Interferon Therapie, ist klinisch den Erwartungen in vielen Fällen nicht gerecht geworden und ist bei zahlreichen Nebenwirkungen heute wenigen Indikationen vorbehalten (chronische HBV, HCV). Es ist mittlerweile deutlich, daß die Kombination mit antiviralen Chemotherapeutika die Behandlungserfolge der IFN-Monotherapie verbessern kann.

Die Immuntherapie mit passiv übertragenen virusspezifischen *in vitro* stimulierten und expandierten zytotoxischen T-Zellen (CMV, EBV) ist bei Immundefekt nach Knochenmarktransplantation erwiesenermaßen möglich, aber wegen des hohen logistischen Aufwandes weiterhin experimentell.

Die Selektion resistenter Virusstämme unter antiviraler Therapie ist besonders bei Patienten mit schwerer Immunschwäche klinisch von zunehmender Bedeutung. Resistenzvermittelnde Mutationen treten zwar spontan in Viruspopulationen auf, ohne Selektionsdruck durch eine Substanz haben jedoch Wildtyp-Virusstämme anders als bei vielen Bakterien offenbar häufig einen Selektionsvorteil gegenüber Stämmen, die resistenzvermittelnde Mutationen tragen, da diese wichtige virale Funktionen verändern mit Nachteilen für die Virusreplikation. So läßt beispielsweise der eingeschränkte Zelltropismus Thymidinkinase-negativer, Aciclovir-resistenter HSV die Vermehrung in humanen Ganglienzellen nicht zu, die Etablierung einer Viruspersistenz wird damit unterbunden. Die Situation ist allerdings z.B. bei HSV komplexer, da es drei mögliche Veränderungen bei der HSV-Thymidinkinase gibt:

1. die Thymidinkinase fehlt
2. die Thymidinkinase kann generell schlechter phosphorylieren
3. die funktionelle Thymidinkinase hat eine veränderte Substratspezifität, welche nur die Phosphorylierung der Nukleosidanaloga unmöglich macht.

Die letztgenannte seltene Situation führt zu dem gefürchteten resistenten Virus mit normaler Pathogenität. Die Proliferationskinetik von Virusstämmen mit resistenzvermittelnden Mutationen ist gegenüber Wildvirusstämmen häufig auch verlangsamt (z.B. CMV-Stämme mit UL97 Mutationen). Unter lang andauernder antiviraler Therapie, wie sie bei Immunsupprimierten notwendig sein kann, werden Virusstämme mit resistenzvermittelnden Mutationen effektiv selek-

Tab. 5.6 Virusvermehrungsschritte als Ziele antiviraler Therapie (Beispiele)

Virusfunktion	Möglichkeiten der antiviralen Therapie	Viren und Substanzen
Adsorption/ Fusion/ Penetration	1. Antikörper bzw. lösliche virale oder zelluläre Rezeptoren / Liganden 2. chemisch modifizierte Oligonukleotide 3. Polyanionen, Heparin, Dextransulfat	1. HIV (rekombinantes lösliches CD4), Paramyxo- und Influenzaviren (spezifische Oligopeptide hemmen die Membranfusion während der Virus-Endozytose), Morbillivirus (anti CD46 Antiserum) 2., 3. HIV, CMV (Phosphothionate) (z. Zt. ohne klinische Anwendung)
Uncoating	1. Blockierung von (durch virales M2 Protein gebildeten) Ionenkanälen an Endosomen nach Virus-Endozytose 2. „Kapsid-stabilisierende Substanzen"	1. Influenza-A-Viren (Amantadin, Rimantadin) 2. Rhinoviren („Canyoninhibitoren")
Transkription	1. Hemmung der mRNA Initiation/Elongation, Verminderung des intrazellulären GTP-pools 2. Hemmung viraler Transkription durch Mx-Proteine 3. Inhibition viraler Promotoren oder Transaktivatoren	1. Influenza-A-Viren, HCV, Lassavirus, Hantavirus (Ribavirin, Mechanismen nicht vollständig klar). 2. Influenza (Interferone-α und β) 3. (z.Zt. ohne klinische Anwendung)
Integration	Inhibitoren der Integration proviraler DNA	HIV-1 (z.Zt. ohne klinische Anwendung)
Nukleinsäure-synthese (Genom-replikation)	1. Inhibition der reversen Transkriptase (kompetitive Inhibition, allosterische Bindung) 2. kompetitive Hemmung der viralen Polymerase 3. nicht kompetitive Hemmung der viralen Polymerase 4. Hemmung der „Genomreifung"	1. HIV (Nukleosidanaloga, NNRTI) 2. Herpesviren (Aciclovir, Penciclovir, Ganciclovir) 3. Herpesviren (Foscarnet) 4. CMV (Benzimidazolderivate)
	u. U. Aktivierung antiviraler Nukleosidanaloga durch virale Enzyme (Phosphorylierung durch virale Thymidinkinasen oder Phosphotransferasen)	
Synthese viraler Proteine	1. Inhibition des 5'capping der viralen mRNA 2. Degradation viraler mRNA 3. Hemmung zellulärer Translations-Initialisierungsfaktoren (z. B. eIF-2) 4. Hemmung durch Antisense-Oligonukleotide	1. Minusstrang-RNA-Viren 2. Plusstrang-RNA-Viren (Interferone – RNase L) 3. HBV, HCV, Papillomaviren (Interferone – Proteinkinase P1) 4. Zytomegalievirus (Formivirsen)
Reifung viraler Proteine	1. Hemmung der Spaltung viraler Vorläuferproteine 2. Hemmung der Glykosylierung viraler Proteine	1. HIV (Proteasehemmer) 2. HIV (Castanospermin, z.Zt.ohne klinische Anwendung)
Ausschleusung	Hemmung der viralen Neuraminidase	Influenzaviren (Neuraminidasehemmer)

tiert und können dann zu Therapieversagen und

rungen aus dem latent infizierten Ganglion wieder

obligat (z.B. Ganciclovir) zum Abbruch einer neu gebildeten viralen Nukleinsäurekette führen (Abb. 5.34). Nukleosidale Reverse Transkriptase-Inhibitoren führen obligat zum Kettenabbruch viraler DNA.
Abhängig von der Affinität der Nukleosidanaloga zu unterschiedlichen viralen oder zellulären Enzymen ist sowohl die antivirale Wirkung gegenüber verschiedenen Viren als auch das Spektrum der unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei den einzelnen Substanzen verschieden (Tab. 5.7).
Nukleosidanaloga werden unverändert oder nach Metabolisierung renal ausgeschieden. Im Rahmen der Metabolisierung entstehen bei Purinanaloga häufig Harnsäuremetabolite, die für Nephrotoxizität mitverantwortlich sind (z.B. Ribavirin). Auch nicht metabolisierte Purinanaloga können durch Auskristallisation in den Nierentubuli nephrotoxisch wirken. Interessanterweise zeigen Purinanaloga unterschiedliche Wechselwirkungen mit Urikosurika (z.B. Probenecid). Während Probenecid die renale Clearance von Aciclovir und Ganciclovir reduziert, wirkt die Kombination mit Cidofovir (CDV) sogar nephroprotektiv durch erhöhte CDV-Clearance. Die übrigen Nebenwirkungen der einzelnen Substanzen entstehen durch Inhibition zellulärer Enzyme. Die unerwünschte neurotoxische Wirkung von Zalcitabin und Didanosin entsteht z.B. durch Inhibition der mitochondrialen Polymerase-γ. Auch die Hämatotoxizität von Ganciclovir entsteht durch unspezifische Hemmung zellulärer Polymerasen.
Nukleosidanaloga sind zumindest in Tierversuchen mutagen und teratogen, wobei dies bislang für die zugelassenen Präparate im Rahmen der Therapie nicht gezeigt wurde. Langzeitbeobachtungen liegen für die meisten Substanzen nicht vor.

5.2.2 Pyrophosphatanaloga

(Abb. 5.35) Die Bindung zwischen Pyrophosphatanaloga (Phosphonoessigsäure (PAA) und Phosphonoameisensäure (PFA)) und der Pyrophosphatbindungsstelle zahlreicher viraler Polymerasen (HSV, VZV, CMV, EBV, HBV, HIV) führt zum Funktionsverlust des Enzyms und hemmt damit die Virusreplikation. Pyrophosphatanaloga unterscheiden sich von Nukleosidanaloga chemisch, funktionell und bezüglich ihrer Bindungsstelle an der viralen Polymerase. Kreuzresistenzen mit Nukleosidanaloga sind kaum beschrieben. Das klinisch anwendbare PFA kann parenteral oder bei HSV topisch appliziert werden und ist ohne weitere Metabolisierung in der Lage, nicht-kompetitiv an virale Polymerasen zu binden. PFA ist bei Ganciclovir-resistenter CMV-Erkrankung Immunsupprimierter indiziert, aber auch als Alternative bei schweren Blutbildveränderungen unter Ganciclovir-Therapie. Aufgrund guter Liquorgängigkeit wird PFA zusammen mit Ganciclovir bei CMV-Meningoenzephalitis eingesetzt, die Elimination erfolgt unverändert über die Niere.
Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen entstehen durch unspezifische Hemmung zellulärer Polymerasen. Bekannte Nebenwirkungen sind die Nephrotoxizität und Schleimhautulcera (ausreichende i.v. Hydratation wirkt protektiv), Schüttelfrost; Blutbildveränderungen und zentralnervöse Nebenwirkungen werden weniger häufig beobachtet.

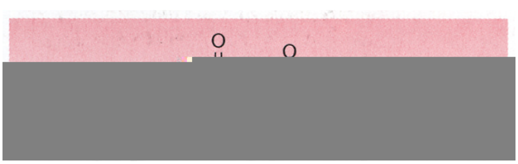


Abb. 5.35 Foscarnet (PFA), Pyrophosphatanalogon.

5.2.3 Proteaseinhibitoren (PI) von HIV

(Abb. 5.36; Tab. 5.8) Bei der Replikation zahlreicher Viren (z.B. HIV, HCV) werden die viralen Struktur- und Funktionsproteine zuerst als funktionell inaktive, größere Vorläuferproteine translatiert. Erst nach spezifischer Spaltung durch viruskodierte Proteasen entstehen die essentiellen aktiven, reifen Proteine. Bislang werden Proteaseinhibitoren (PI) therapeutisch

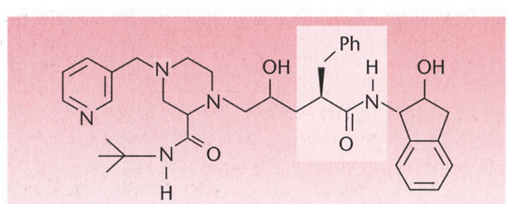


Abb. 5.36 Indinavir als Beispiel eines Protease-Inhibitors von HIV. Die Strukturhomologie des Inhibitors zur Proteaseschnittstelle am gag-pol-Polyprotein von HIV ist hell unterlegt.

Tab. 5.8 Proteaseinhibitoren von HIV

INN (Abkürzung), Handelsname	Indikation Applikation und Standarddosierung	Aktivierung Resistenzmechanismen
Amprenavir (APV) Agenerase®	HIV-Infektion/AIDS 2 × 1200 mg	▪ keine intrazelluläre Aktivierung erforderlich ▪ R.: Mutationen des aktiven Zentrums der Protease von HIV ▪ häufig Kreuzresistenz zu anderen PI, jedoch nicht obligat
Indinavir (IDV) Crixivan®	HIV-Infektion/AIDS 3 × 800 mg p.o. (OBV: 60%).	
Nelfinavir (NFV) Viracept®	HIV-Infektion/AIDS 3 × 750 mg p.o. (OBV: 29%).	
Ritonavir (RTV) Norvir®	HIV-Infektion/AIDS 2 × 600 mg p.o. (OBV: 78%). Kinder >12 Jahre: 800 mg/m² in 2 Dosen	
Saquinavir (SQV) Fortovase® (SQV-SGC, Softgel) Invirase® (SQV-HDC, Hartgel)	HIV-Infektion/AIDS Dosierung: 3 × 1200 mg p.o. [Fortovase®] (OBV 20%), 400–600 mg p.o. [Invirase®] (OBV 4%) nur in Kombination mit RTV	

OBV: orale Bioverfügbarkeit
p.o.: per os

ausschließlich bei HIV eingesetzt, wobei PI für andere Viren (z.B. HCV) in Entwicklung sind. Durch autokatalytische Abspaltung vom gag-pol-Protein entsteht die aktive, dimere HIV-Protease, welche weiterhin mehrere Spaltungen von gag in verschiedene Strukturproteine und des gag-pol-Fusionsproteins in die enzymatisch aktiven Proteine (Reverse Transkriptase/RNase H, Integrase) katalysiert. Die Protease von HIV wird zusammen mit der Nukleinsäure und dem RT-Vorläuferprotein in das Virion verpackt („Assembly"). Die katalytische Aktivität der viralen Protease ist im Rahmen der Virusreifung von essentieller Bedeutung. PI binden als „falsche Peptide" das aktive Zentrum viraler Proteasen und hemmen deren Funktion. Im Gegensatz zu Inhibitoren der Reversen Transkriptase hemmen PI die Replikation von HIV auch nach Integration viraler DNA in das Wirtszellgenom. Die bekannten PI wirken aufgrund einer hohen Affinität zur Protease von HIV in hohem Maße virusselektiv. Die Aktivität zellulärer Proteasen (Renin, Catapepsin D, Elastase und Faktor X) wird kaum beeinflußt.
Proteaseinhibitoren werden durch Isoenzyme von Cytochrom P450 in der Leber metabolisiert. Durch Interferenz mit Cytochrom P450 ergeben sich zahlreiche Wechselwirkungen mit anderen hepatisch metabolisierten Substanzen (z.B. Rifampicin, Ketokonazol, Antiarrhythmika). Eine sichere hormonelle Antikonzeption ist wegen erhöhten Abbaus von Sexualsteroiden nicht möglich. Unerwünschte Arzneimittelwirkungen sind die Lipodystrophie (v.a. Indinavir) mit „cushingoider" Fettverteilungsstörung, Fettstoffwechselstörungen, Diabetes mellitus, erhöhte Transaminasen sowie gastrointestinale Nebenwirkungen mit Übelkeit (v.a. Ritonavir) und Durchfall (v.a. Nelfinavir).

5.2.4 Nicht-Nukleosidische-Reverse-Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI) von HIV-1

NNRTI binden spezifisch und nicht kompetitiv an die reverse Transkriptase (RT) von HIV-1 (Tab. 5.9). Diese allosterische Bindung im Bereich der polymerisationsaktiven Region hemmt die RT-Aktivität durch Konformationsänderungen. Im Gegensatz zu nukleosidischen Reverse Transkriptase-Inhibitoren (NRTI) sind NNRTI ohne weitere Aktivierungsschritte wirksam, die Virusselektivität entsteht durch hohe Affinität zur RT von HIV-1, die RT von HIV-2 oder anderen Retroviren werden dagegen nicht inhibiert. NNRTI werden auch hepatisch durch Isoenzyme von Cytochrom P450 (CYP2B1, CYP3A4) metabolisiert, Wechselwirkungen mit

Tab. 5.9 Nicht-Nukleosidische Reverse Transkriptase-Inhibitoren (NNRTI) von HIV-1

INN (Abkürzung), Handelsname	Indikation Applikation und Standarddosierung	Aktivierung Resistenzmechanismen
Delarvidin (DLV) Rescriptor®	HIV-1 3 × 400 mg p.o. (OBV: 60%)	▪ keine intrazelluläre Aktivierung erforderlich ▪ R.: Mutationen der polymeraseaktiven Region der RT von HIV-1 ▪ häufig Kreuzresistenz mit anderen NNRTI, keine Kreuzresistenz zu NRTI
Efavirenz (EfV) Sustiva®	HIV-1 600 mg p.o. (OBV: 85%)	
Nevirapin (NVP) Viramune®	HIV-1 2 × 200 mg p.o. (OBV: 64%). Kinder (nicht zugelassen): 240–400 mg/m²/Tag in 2 Dosen	

NNRTI: nicht nukleosidische Reverse Transkriptase-Inhibitoren; NRTI: nukleosidische Reverse Transkriptase-Inhibitoren; OBV: orale Bioverfügbarkeit; p.o.: per os

anderen hepatisch eliminierten Substanzen entstehen durch verstärkte (Enzyminduktion) oder verminderte Metabolisierung (kompetitive Hemmung).

Unerwünschte Arzneimittelwirkungen äußern sich als z.T. schwere Hautreaktionen (toxische epidermale Nekrolyse, STEVENS-JOHNSON-Syndrom), selten auch durch gastrointestinale Nebenwirkungen.

viralen Therapie kann dies zu zentralnervösen Nebenwirkungen führen mit Zittrigkeit, Unruhe, dosisabhängig sogar zu halluzinatorischen Psychosen und zu vegetativen Nebenwirkungen mit Harnverhalt, Mundtrockenheit, Mydriasis mit Akkomodationsstörung u.a. Die Kombination mit Neuroleptika ist wegen der Gefahr des malignen neuroleptischen Syndroms kontraindiziert. Nach guter enteraler Resorption werden

Tab. 5.10 Andere antivirale Substanzen

INN Handelsname	Indikation Applikation und Standarddosierung	Substanzgruppe Resistenzmechanismen
Amantadin Infex® Rimantadin	nur Influenza-A-Virus (Erkrankung und Prophylaxe) 200 mg p.o./i.v (OBV: 90%). Kinder < 30 kg: 5 mg/kg KG.	▪ trizyklisches Amin ▪ Mutationen des M2-Proteins von Influenza-A
Zanamivir Relenza®	Influenza-Viren 2×5 mg inhalativ	▪ Neuraminidaseinhibitor ▪ Mutationen der Neuraminidase
Formivirsen Vitravene®	CMV-Retinitis intravitreale Therapie	▪ Antisense-Oligonukleotid ▪ Resistenzmechanismen unklar
IFN-α-2a Roferon A® IFN-α-2b Intron A®	chronische HBV-Infektion, aktive HCV-Infektion 3–6(–10) MU 3×/Woche s.c.	▪ Zytokin ▪ Resistenzmechanismen unklar, evtl. natürliche Resistenz (bestimmte Genotypen von HCV)

KG: Körpergewicht; MU: Mega-Units; OBV: orale Bioverfügbarkeit; p.o.: per os; s.c.: subkutan

cornaviren. Die vier Strukturproteine (VP1–4) bilden an der Oberfläche von Picornavirus-Kapsiden eine Canyonstruktur aus, die für die Erkennung potentieller Zielzellen von entscheidender Bedeutung ist (z.B. Interaktion von Rhinovirus 14 und ICAM-1). Canyoninhibitoren sind Substanzen, die durch spezifische Bindung im Canyon von Picornaviren die Virus-Zell-Interaktion behindern (Virusadsorption); zusätzlich kommt es zur „Verklammerung" der viralen Strukturproteine und zur Blockierung des Uncoating. Durch gezieltes „drug design" konnte die Typspezifität von Canyoninhibitoren weitgehend umgangen werden, was eine wesentliche Voraussetzung für deren therapeutischen Einsatz ist. Pleconaril (Picovir®) soll zur Behandlung von Rhinovirusinfektionen eingesetzt werden (Phase-III-Studie), die Effektivität bei Enterovirus-Meningitis oder bei Enterovirus-Myokarditis wird z. Zt. in klinischen Studien untersucht.

Antisense-Oligonukleotide (Formivirsen). Antisense-Oligonukleotide sind chemisch stabilisierte, komplementäre Nukleinsäurefragmente, die spezifisch mit der mRNA des entsprechenden (viralen) Gens hybridisieren. Durch diese Oligonukleotid/mRNA-Hybridisierung soll die Translation des entsprechenden Genprodukts inhibiert werden. Durch bislang weitgehend unbekannte Mechanismen hemmen Oligonukleotide allerdings auch sequenzunabhängig frühe Schritte der Virusreplikation (Adsorption, Penetration). Das Thiophosphonat-Oligonukleotid Formivirsen ist komplementär zu Abschnitten des IE2-Gens von CMV und wird bereits zur lokalen intravitrealen Therapie der CMV-Retinitis eingesetzt. Lokale Nebenwirkungen wurden bei intravitrealer Injektion beschrieben.

Immunmodulatorische Substanzen (z.B. IFN-α). Im Rahmen physiologischer Entzündungsreaktionen werden vom Wirtsorganismus zahlreiche Zytokine sezerniert, von denen auch eine antivirale Wirkung ausgehen kann. Diese antivirale Wirkung entsteht durch Modulation des Wirtsstoffwechsels selbst (Induktion des Mx-Gens, Produktion von RNase L, Hemmung von Translationsinitialisierungsfaktoren) oder durch Aktivierung der antiviralen Immunantwort (verbesserte Präsentation viraler Antigene durch MHC I und MHC II, Aktivierung von zytotoxischen T-Lymphozyten und Natürlichen Killerzellen). Die antivirale Wirkung von Zytokinen ist nicht Virustyp-spezifisch und erfaßt zahlreiche Schritte der Virusreplikation. Nebenwirkungen dieser eigentlich körpereigenen Substanzen sind bei therapeutischer Dosierung: Fieber, Abgeschlagenheit, Exantheme, Gliederschmerzen, Kopfschmerzen. Selten wird die Bildung von Autoantikörpern induziert, die Autoimmunerkrankungen, wie z.B. Autoimmunthyreoiditis, auslösen können. Neuerdings wird für die Therapie der chronisch aktiven Hepatitis-B- oder -C-Virus-Infektion auch pegyliertes IFN-α (an Polyethylenglykol konjugiertes IFN-α) eingesetzt. Im Vergleich zum natürlichen IFN-α ist die Halbwertszeit deutlich verlängert.

5.2.6 Kombinationstherapie

Bei der HIV-Therapie konnte die Überlegenheit einer **Kombinationstherapie** im Vergleich zur Monotherapie eindeutig belegt werden. Bei vielen Patienten gelingt es, dauerhafter die Virusreplikation zu supprimieren und langfristig Resistenzentwicklungen zu vermeiden. Die Monotherapie von HIV ist obsolet (Ausnahme: Zidovudin-Therapie HIV-positiver Mütter zur Vermeidung der maternofetalen Virustransmission). Bei der Kombination sollte versucht werden, Substanzen mit additiver oder besser synergistischer Wirkung ohne Potenzierung der Nebenwirkungen zu kombinieren. Manche Kombinationen sind aufgrund des Resistenzprofils vorteilhaft (z.B. Zidovudin und Lamivudin, da die Lamivudin-Resistenzmutation Met^{184}-Val die Sensitivität Zidovudin-resistenter Stämme wieder verbessert) (Zur Kombinationstherapie von HIV s. Empfehlungen der „Deutschen AIDS Gesellschaft“).
Weitere Indikationen für die Kombination antiviraler Substanzen sind die CMV-Enzephalitis (Ganciclovir und Foscarnet) sowie die Hepatitis B (Famciclovir, Lamivudin und IFN-α) und die Hepatitis C (Ribavirin und IFN-α).

6 Spezielle Virologie

allerdings die Anwesenheit zellulärer Faktoren, die in ihrer Gesamtheit nur in einem bestimmten Differenzierungszustand der Zelle und nur während der DNA-Synthesephase des Zellteilungszyklus verfügbar sind. Zielzellen des B19-Virus sind vorzugsweise erythroide Vorläuferzellen im Knochenmark. Sie tragen das als **Rezeptor** des Virus identifizierte Blutgruppen-Antigen P (Globosid) auf ihrer Oberfläche und sind in der Lage, eine produktive Virusvermehrung in ihrem Zellkern zu unterstützen. Die damit einhergehende Zellzerstörung führt zur Hemmung der Erythropoese. Die Schädigung anderer, für die B19-Virusvermehrung nicht voll permissiver Zellen, wie z.B. der Megakaryozyten, wird durch die in diesen Zellen dennoch voll ablaufende Synthese und die toxische Wirkung des viralen Nicht-Strukturproteins NS-1 erklärt. Manifestationen wie Exanthem und Arthralgien/Arthritiden haben aller Wahrscheinlichkeit nach immunologische Ursachen (Bildung von Antigen-Antikörperkomplexen, Induktion von Autoantikörpern, Stimulation und Ausschüttung von Zytokinen).

Zum Verständnis des sich ständig erweiternden Spektrums der klinischen Manifestationen einer

häufig im Gefolge der B19-Infektion erwachsener Frauen auf.

Bei Primärinfektionen in der Schwangerschaft kann das B19-Virus in etwa 30% der Fälle transplazentar auf den Föten übertragen werden. Dies führt wiederum in etwa einem Drittel der Fälle zum **Hydrops fetalis,** intrauterinem Fruchttod und spontanem Abort. Intrauterine Infektionen und Manifestationen sind während der gesamten Schwangerschaft möglich. Hydrops fetalis, Fruchttod und Abort werden jedoch gehäuft während des zweiten Trimenons beobachtet. Es gibt keine gesicherten Hinweise, daß eine B19-Infektion kongenitale Mißbildungen verursacht.

Im ansonsten gesunden Individuum kommt es im Zuge einer B19-Infektion lediglich zu einer passageren Retikulozytopenie. Bei Patienten mit angeborenen oder erworbenen hämolytischen Anämien (Thalassämie, Sphärozytose, etc.) manifestiert sich der virusbedingte Abbruch der Erythrozytenreifung dagegen als **aplastische Krise.** Chronische oder remittierende Anämien nach B19-Infektion werden in erster Linie bei Patienten mit gestörter Immunabwehr (angeborener Immundefekt, Immunsuppressi-

auf chronische Infekte bei Immunsupprimierten oder zur Abklärung einer intrauterinen Infektion ist der Nachweis des Virusgenoms aus Blut, Knochenmark bzw. Fruchtwasser und Nabelschnurblut mit Hilfe der DNA-Hybridisierung oder der PCR angezeigt. Die PCR wird mit Vorteil auch zur Diagnosesicherung bei Arthritiden durch den Nachweis des Virusgenoms aus Synovia-Feinnadelbiopsien eingesetzt.

Epidemiologie

Das B19-Virus ist weltweit verbreitet. In den westlichen Industrieländern liegt die Seroprävalenz zwischen 40 und 70%. Infektionen kommen besonders bei Kindern und Jugendlichen vor. Eine jahreszeitliche Häufung ist in der Zeit von Winter bis Frühsommer zu beobachten. Ausscheidung und Aufnahme des Virus scheinen vor allem über den Respirationstrakt zu erfolgen. Übertragungen durch Blut und Blutprodukte sind wiederholt beobachtet worden.

Prävention und Therapie

Ein rekombinanter Impfstoff zur Verhütung einer B19-Virusinfektion ist in Entwicklung. Zur Beherrschung chronischer B19-Infekte hat sich die wiederholte Gabe von menschlichem Standardimmunglobulin bewährt. Bei Hydrops fetalis sind intrauterine Austauschtransfusionen erfolgreich vorgenommen worden.

Literatur

CASSINOTTI, P. et al.: Evidence for persistence of human parvovirus B19 DNA in bone marrow. J. Med. Virol. 53 (1997) 229.

COHEN, B.: Parvovirus B19: an expanding spectrum of disease. Brit. Med. J. 311 (1995) 1549.

ENDERS, G. et al.: Life-threatening parvovirus B19-associated myocarditis and cardiac transplantation as possible therapy: two case reports. Clin. Infect. Dis. 26 (1998) 355.

SIEGL, G., and P. CASSINOTTI: Parvoviruses. In: COLLIER, L., A. BALOWS, and M. SUSSMAN (Eds.): Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Vol. 1, Virology, S. 261. Arnold, London, Sydney, Auckland, 1998.

TAKAHASHI, Y. et al.: Human parvovirus B19 as a causative agent for rheumatoid arthritis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95 (1998) 8227.

6.2 Papillomviren und Polyomaviren

HERBERT PFISTER

Die Familien **Papillomviren** und **Polyomaviren** wurden bis vor kurzem aufgrund struktureller und biochemischer Gemeinsamkeiten als *Papovaviren* zusammengefaßt. Die Virionen beider Familien enthalten in einem ikosaedrischen Proteinkapsid *doppelsträngige, ringförmig geschlossene DNA*, die aus etwa 8000 bzw. 5300 Basenpaaren besteht. Bei Papillomviren ist im Gegensatz zu Polyomaviren nur ein DNA-Strang kodierend. Papovaviren sind beim Menschen, bei Säugetieren und Vögeln bekannt und in ihrer jeweiligen Wirtsspezies in Form latent persistierender Infektionen meist weit verbreitet.

Alle bekannten Papovaviren können im natürlichen Wirt oder zumindest bei experimenteller Infektion von Versuchstieren benigne oder maligne Tumoren hervorrufen.

6.2.1 Papillomviren

Eigenschaften

Papillomviren induzieren bei ihren natürlichen Wirtsorganismen primär gutartige Tumoren der Haut und der Schleimhäute. Viruspartikel können elektronenmikroskopisch in den Kernen differenzierter Keratinozyten von Warzen und Papillomen nachgewiesen und aus entsprechendem Biopsiematerial isoliert werden. Die Vermehrung in vitro gelingt nur sehr ineffizient in anspruchsvollen organotypischen Keratinozytenkulturen. Da die Ausbeute bei direkter Isolierung in vielen Fällen zu gering ist, um eine Charakterisierung viraler Proteine und Antigene zu erlauben, beruht die Typisierung von Papillomviren auf dem Vergleich der Sequenzen ihrer Nukleinsäuren, die mit Hilfe gentechnischer Methoden in Bakterien kloniert wurden. Man unterscheidet gegenwärtig mehr als 80 Genotypen humanpathogener Papillomviren **(HPV).** Trotz erheblicher Sequenzunterschiede ist die Gesamtorganisation der Genome bemerkenswert ähnlich (Abb. 6.1). Soweit untersucht, tragen die viralen Strukturproteine typspezifische Antigene sowie ein gattungsspezifisches Epitop.

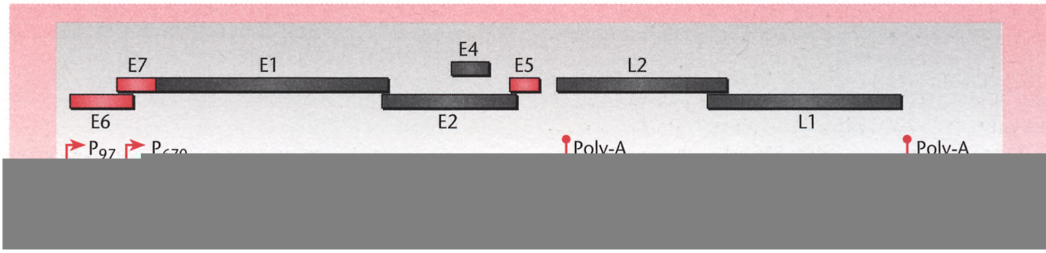


Abb. 6.1 Lineare Darstellung des zirkulären Genoms von HPV16 mit der Lage des Onkogenpromotors P_{97}, des bei Keratinozytendifferenzierung induzierten Promotors P_{670} und der Polyadenylierungssignale früher und später Transkripte. Die offenen Leserahmen der früh (E1-E7) und spät (L1,2) exprimierten Region sind als Balken dargestellt, die der Onkogene in rot. Skala in Basenpaaren.

Pathogenese und Klinik

Man nimmt allgemein an, daß HPV zunächst über Mikroverletzungen Basalzellen der Epidermis befallen. Ein großer Anteil der HPV-Infektionen verläuft dann latent, ohne morphologische Veränderungen des Epithels hervorzurufen. Die Basalzellen erlauben keine Virusvermehrung. Erst mit fortschreitender Zelldifferenzierung kommt es zur Replikation der HPV-DNA und schließlich zur Synthese viraler Strukturproteine in den obersten Schichten der Epidermis zusammen mit virustypspezifischen, zytopathischen Effekten (Abb. 6.2).

Zur Etablierung der Infektion und für die vegetative Replikation entwickelten Papillomviren verschiedene mitogene und antiapoptotische Aktivitäten. Diese potentiell onkogenen Funktionen werden von den Pro-

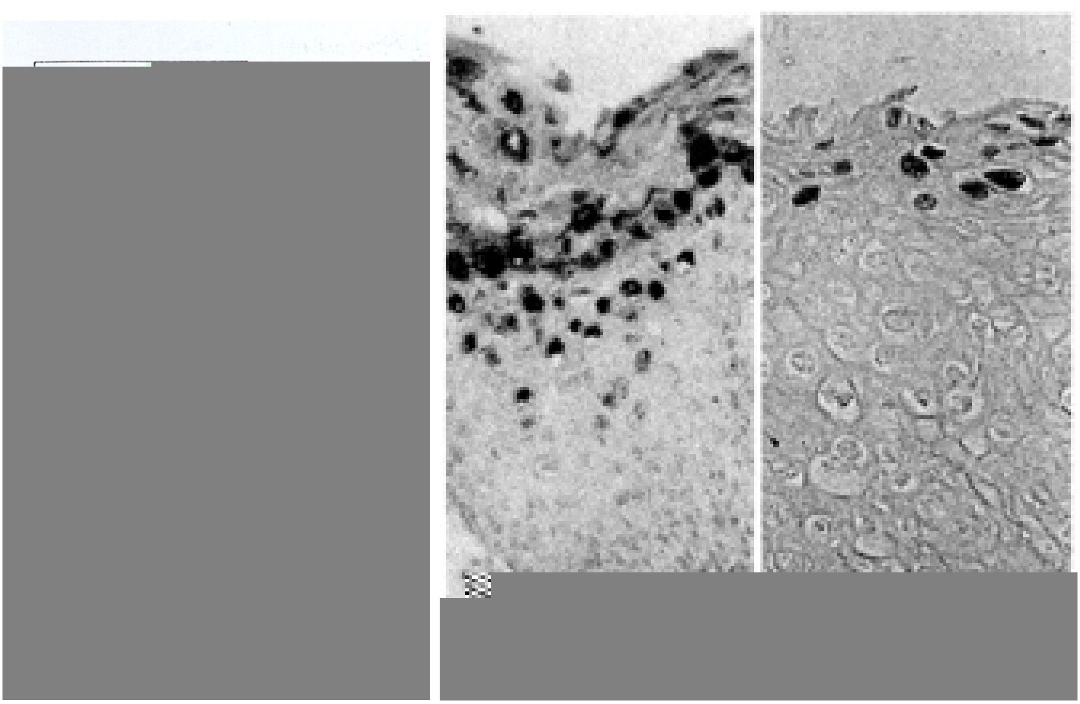


Abb. 6.2 Schematische Darstellung der Replikation von Papillomviren in Epidermiszellen [○ virale DNA, ● Viruspartikel] (aus Pfister, H.; Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 99 (1984) 101-181). B: Nachweis viraler DNA durch in situ Hybridisierung (E. Beyer-Finkler, Erlangen). C: Immunhistochemischer Nachweis viraler Kapsidproteine in Zellkernen der obersten Epidermisschichten (B. Jenson, Washington).

teinen E5, E6 und E7 vermittelt (s. Abb. 6.1). E5 wirkt synergistisch mit dem epidermalen Wachstumsfaktor EGF. E7 interagiert mit wichtigen Regulatoren des Zellzyklus, u.a. mit dem Retinoblastomprotein Rb und seinen Verwandten (p107 und p130) sowie mit Inhibitoren Zyklin-abhängiger Kinasen (p21 und p27). Das E6 Protein führt zur Degradation des zellulären p53 Proteins, das eine wichtige Rolle bei der Kontrolle der Integrität des zellulären Genoms spielt und Apoptose induziert (s. Kapitel 11.13, Onkogenese). E6 ist u.a. weiterhin in der Lage, die Telomeraseaktivität zu steigern. Insbesondere E7 induziert in suprabasalen Epithelzellen die DNA-Synthese, um so die Replikation viraler DNA zu ermöglichen. Dies verzögert das normale Differenzierungsprogramm der Keratinozyten, führt zur Verdickung des Epithels und damit zum gutartigen Tumor. In prämalignen und malignen Tumoren beobachtet man regelmäßig eine Überexpression der Onkogene E6 und E7 in proliferationskompetenten Zellen. Vor allem das Ausschalten der p53-Funktion bedingt eine genetische Instabilität, die über Aktivierung zellulärer Onkogene oder Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen das Risiko der malignen Progression erhöht.

Infektionen mit verschiedenen HPV-Typen manifestieren sich klinisch als **Warzen** der verhornenden Haut, **Genitalwarzen** oder **spitze Kondylome, Dysplasien** der Schleimhäute, **Papillome** der Mundhöhle und des Kehlkopfes oder **Konjunktivapapillome** (Tab. 6.1). Die Inkubationszeit beträgt 6 Wochen bis 2 Jahre, im Mittel 3–4 Monate. Eine Besonderheit ist die *fokale, epitheliale Hyperplasie* HECK, die bevorzugt bei bestimmten ethnischen Gruppen wie Indianern und Eskimos auftritt. Mäßig erhabene Papeln überziehen hier die gesamte Mundschleimhaut. Bemerkenswert ist ferner die seltene Erkrankung *Epidermodysplasia verruciformis,* die familiär gehäuft auftritt. Die Anlage wird meist

Tab. 6.1 HPV-Typen in gutartigen und bösartigen Tumoren des Menschen

Tumor	HPV-Typen häufig	selten
Hautwarzen		
Plantarwarzen	1	2, 4, 63
Vulgärwarzen	2, 27, 57	1, 4, 7, 26, 29, 41, 75–77
plane, juvenile Warzen	3, 10	28, 49
pigmentierte Warzen	4, 60, 65	
epidermoide Zysten	60	57
makulöse Hautveränderungen	5, 8, 17	9, 12, 14, 15
bei Epidermodysplasia verruciformis	20, 36	19, 21–25, 38, 47, 50
Anogenitalläsionen		
spitze Kondylome	6, 11	2, 42, 44, 54, 55, 57, 61, 70

autosomal rezessiv vererbt und macht die Patienten empfänglich für Infektionen mit einer heterogenen HPV-Gruppe, die zu makulösen Hautveränderungen führt.

Die klinische Bedeutung der genannten Neubildungen ist unterschiedlich. **Hautwarzen** sind meist harmlos, zeigen ein begrenztes Wachstum und bilden sich häufig spontan zurück. Ähnliches gilt für **spitze Kondylome,** die zwar in Ausnahmefällen monströse Formen annehmen und invasiv wachsen (BUSCHKE-LÖWENSTEIN-Tumoren), aber nur extrem selten metastasieren. **Larynxpapillome** zeigen eine bimodale Altersverteilung. Bei Kindern treten sie in Vielzahl auf und können aufgrund üppigen Wachstums die Atemwege einengen. Die juvenilen Larynxpapillome entarten spontan nur extrem selten, aber **Röntgenbestrahlung** führte in vielen Fällen zu Karzinomen und ist daher **absolut kontraindiziert.** Bei Erwachsenen sind Larynxpapillome typischerweise solitär und stellen Präkanzerosen dar, die in etwa 20% der Fälle maligne werden.

Die höchste Entartungsrate beobachtet man bei Patienten mit Epidermodysplasia verruciformis, bei denen sich in 30–60% der Fälle Plattenepithelkarzinome der Haut ausbilden, in denen sich regelmäßig die DNA spezifischer HPV-Typen (HPV 5, 8, 17, 20) nachweisen läßt.

Von größtem klinischen Interesse sind die Dysplasien der Gebärmutterhalsschleimhaut, die als Vorläufer des Zervixkarzinoms gelten. Sie werden auch als „cervikale, intraepitheliale Neoplasien" (CIN) bezeichnet, um ihr malignes Potential zum Ausdruck zu bringen, oder als „squamous intraepithelial lesions" (SIL).

Aufgrund des gehäuften Auftretens bestimmter HPV-Typen in Plattenepithel- bzw. Adenokarzinomen der Cervix uteri und der besonderen Transformationseffizienz dieser Typen *in vitro* schließt man, daß die Dysplasien vor allem in Verbindung mit spezifischen HPV-Infektionen (HPV 16, 18, 45) maligne entarten, die somit für die Patientin ein erhöhtes Risiko bedeuten. Die genannten HPV-Typen führen an den äußeren Genitalien von Frau und Mann ebenfalls zu intraepithelialen Neoplasien, die sich hier jedoch seltener zu Vulva- oder Peniskarzinomen entwickeln. In mehr als 95% der Zervixkarzinome findet man HPV-Genome, wobei die DNA von HPV 16 und 18 häufig in zelluläre Chromosomen integriert vorliegt. Die Integration der in prämalignen Veränderungen typischerweise extrachromosomal persistierenden Virus-DNA spielt möglicherweise eine Rolle bei der Tumorprogression. Die Rolle von HPV bei **Hautkrebs**, unabhängig von Epidermodysplasia verruciformis, sowie bei **Karzinomen des Respirationstrakts** ist noch nicht klar. In 60–80% der Plattenepithelkarzinome der Haut sind geringe DNA-Mengen eines breiten Spektrums von HPV-Typen nachweisbar, insbesondere auch Epidermodysplasia verruciformis assoziierte Viren und nahe Verwandte. Die Assoziation von HPV mit **Ösophaguskarzinomen** variiert weltweit erheblich (0–60%). Sie ist deutlich in Ländern mit hoher Ösophaguskarzinominzidenz. Hier wurde DNA von HPV 16, HPV 18 und einem Verwandten von HPV 23 nachgewiesen.

Immunität

Im Laufe einer HPV-Infektion bilden Patienten – zum Teil allerdings nur sehr allmählich – Antikörper gegen frühe und späte Proteine des Virus, die zumindest mehrere Jahre über das Abheilen der Papillome hinaus persistieren können. Patientinnen mit Zervixkarzinomen weisen signifikant häufiger als Kontrollpersonen Antikörper gegen frühe Proteine auf. Antikörper gegen das Hauptstrukturprotein L1 sind neutralisierend. Bei Warzenregression und Schutz vor Reinfektion dürfte die zellvermittelte Immunität eine entscheidende Rolle spielen. Dies zeigt sich daran, daß Warzen, Kondylome und HPV-assoziierte Neoplasien bei reduzierter zellvermittelter Immunität sehr häufig auftreten, insbesondere bei chronisch immunsupprimierten Transplantatempfängern und AIDS-Patienten. Papillome entstehen dabei multifokal und rezidivieren oft nach Therapie. HPV-induzierte Tumoren werden bei Regression von zytotoxischen T-Lymphozyten (CTL), natürlichen Killerzellen und Makrophagen infiltriert. Bei Patienten mit CIN konnten HPV 16-E7-spezifische CTL nachgewiesen werden.

Diagnose

HPV-induzierte Warzen oder Kondylome werden unschwer klinisch diagnostiziert.

Besonderes Interesse verdient die Früherkennung HPV-assoziierter Dysplasien, die zu Genitalkrebs führen können.

Sie sind oft extrem unauffällig und erst nach Essigsäurebehandlung als weißes Epithel erkennbar. Der Zytologe findet in Abstrichen von erkrankter Schleimhaut HPV-induzierte zytopathische Effekte. Die charakteristischen Koilozyten zeichnen sich durch eine große, perinukleäre Vakuole, vergrößerten Kern und häufig Doppelkernigkeit aus; ihre Abwesenheit schließt jedoch selbst eine produktive HPV-Infektion nicht aus, da sie z.B. in HPV 16-induzierten Dysplasien relativ selten sind. Die virologische Diagnose konzentriert sich auf den Nachweis viraler Nukleinsäuren in Tumorbiopsien bzw. in Schleimhautabstrichen mit Hilfe von Hybridisierungsverfahren oder Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Ein besonderes diagnostisches Problem ist die HPV-Typenvielfalt, der man durch Hybridisierung mit Cocktails aus DNA- oder RNA-Sonden verschiedener HPV-Typen bzw. durch Verwendung von Konsensus- oder degenerierten Primern in der PCR zur Amplifikation einer Vielzahl von Typen begegnet. Trotzdem ist ein negativer Befund nur bedingt aussagekräftig.

Der HPV-DNA-Nachweis ist als adjuvanter Test bei Vorsorgeuntersuchungen zur Früherkennung des Zervixkarzinoms für Frauen älter als 30 Jahre zu empfehlen. Beim Nachweis von Hochrisiko-HPV-Typen im Genitalbereich sind kürzere Intervalle zwischen gynäkologischen Kontrolluntersuchungen angezeigt.

Immunologische Teste spielen zur Zeit keine Rolle in der Routinediagnostik.

Therapie

Die meisten Behandlungsverfahren zielen auf die **chirurgische Abtragung** oder **chemische bzw. physikalische Zerstörung** der HPV-induzierten Tumoren durch Ätzmittel, flüssigen Stickstoff oder Laser. Die parenterale Interferongabe führt bei der Mehrzahl der Kondylompatienten zu einer kompletten Remission. Dagegen rezidivieren Larynxpapillome häufig nach Interferontherapie, obwohl sie wie Kondylome durch HPV 6 oder 11 induziert sind. Nichtsdestoweniger ist eine fortgesetzte, kontrollierte Interferongabe äußerst hilfreich, um Kindern mit rekurrenten Larynxpapillomen wiederholte Operationen zu ersparen, bis es schließlich zur Spontanheilung kommt.

Epidemiologie

Hautwarzen sind bei Kindern und Jugendlichen weit verbreitet, und bis zu 50% der jungen Erwachsenen haben Antikörper gegen HPV 1. Genitalwarzen und HPV-induzierte, intraepitheliale Neoplasien werden vorwiegend durch sexuellen Kontakt übertragen und sind daher im Gefolge sexueller Promiskuität besonders häufig. Da HPV-Partikel relativ stabil sind, muß man allerdings annehmen, daß genitale HPV-Infektionen auch auf nicht-sexuellem Wege erfolgen können. Mit Hilfe der PCR ließ sich HPV-DNA in 45% der Vulva- oder Zervixabstriche gesunder, sexuell aktiver, junger Frauen nachweisen. Perinatale Infektionen im Geburtskanal sind mögliche Ursache von juvenilen Larynxpapillomen. Da es sich bei Larynxpapillomen um eine seltene Erkrankung relativ zur hohen Durchseuchung mit HPV 6 oder 11 handelt, scheint das Ansteckungsrisiko für das Kind jedoch gering zu sein.
Impfstoffe zur Prophylaxe und zur Immuntherapie über Induktion zytotoxischer T-Lymphozyten gegen virale Antigene (E7) sind in Vorbereitung.

6.2.2 Polyomaviren

Eigenschaften

Erst 1971 wurde ein Vertreter der Polyomaviren vom Menschen aus dem Gehirn eines Patienten mit progressiver multifokaler Leukoenzephalopathie (PML) isoliert. Die Bezeichnung **JC-Virus** (JCV) leitet sich ab von den Initialen des Patienten, ebenso wie beim **BK-Virus** (BKV), das erstmals im Urin eines Transplantatempfängers identifiziert wurde. Die Genome beider Erreger zeigen 75% Sequenzhomologie. Etwa 30% der Seren von Erwachsenen enthalten Antikörper gegen ein lymphotropes Polyomavirus afrikanischer grüner Meerkatzen, was für die Existenz eines verwandten Virus beim Menschen spricht, das allerdings noch nicht isoliert werden konnte.
BKV läßt sich in menschlichen embryonalen Nierenzellen und Fibroblasten vermehren, die daran zugrunde gehen. JCV hat einen engeren Wirtsbereich. Es wächst in Kulturen primärer fötaler menschlicher Gliazellen, die reich sind an Spongioblasten, den Vorläufern der Oligodendrozyten. Abortive BKV- und JCV-Infektionen führen zur Transformation von Nagerzellen und

6

Die Reaktivierung von BKV oder JCV kann im Urinsediment zytologisch durch den Nachweis Einschlußkörper tragender Zellen, aber am sichersten durch den Nachweis von Virus-Antigen und -DNA diagnostiziert werden. Dafür wurden sowohl Antigen-ELISAs als auch Sonden zur Nukleinsäurehybridisierung und Polymerase-Kettenreaktion entwickelt.

Therapie

Beim Auftreten der durch Polyomavirus induzierten Krankheitsbilder sollte, wo möglich, eine laufende, immunsuppressive Therapie unterbrochen werden. Eine erfolgreiche Therapie der PML gibt es nicht. Versuche wurden mit Basenanalogen wie Adeninarabinosid oder Zytosinarabinosid unternommen, die in wenigen Fällen zu teilweiser Remission führten.

Epidemiologie

Primärinfektionen mit BKV und JCV erfolgen in der Kindheit, und zwar früher mit BKV als mit JCV. Die Durchseuchungsrate von Erwachsenen liegt für BKV weltweit zwischen 80% und 100%, und bei JCV zwischen 50% und 75%. Der Übertragungsweg ist noch unklar.

Literatur

DEMETER, L.M.: JC, BK, and other Polyomaviruses; Progressive Multifocal Leucoenzephalopathy S. 1400–1406. In: MANDELL, G.L., J.E. BENNETT, R. DOLIN (eds): Principles and Practice of Infectious Diseases 4th Edition. Churchill Livingstone, New York, Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, Milan, Tokio 1995.

GROSS, G. and G. VON KROGH (eds.): Human Papillomavirus Infections in Dermatovenereology. CRC Press, Boca Raton 1997.

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Human Papillomaviruses, IARC, Lyon 64 (1995).

MYERS, G., F. SVERDRUP, C. BAKER, A. MCBRIDE, K. MÜNGER, and H.-U. BERNARD (eds): Human Papillomaviruses. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos 1997.

PFISTER H. and J. TER SCHEGGET.: Role of HPV in cutaneous premalignant and malignant tumors. Clinics Dermatol. 15(1997) 335–347.

SHAH, K.V.: Polyomaviruses S. 2027–2043. In: FIELDS, B.N., D. M. KNIPE, and P. M. HOWLEY (eds): Virology, 3rd Edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York 1996.

6.3 Adenoviren

HANS J. EGGERS

Die Adenoviren (AV) wurden 1953 von ROWE und Mitarbeitern als „latent-persistierende" (s.u.) Agentien in Tonsillen und adenoidem Gewebe (daher der Name !), unabhängig davon 1954 von HILLEMAN und WERNER als Erreger akuter Infektionen der Luftwege entdeckt. Die AV bilden die Familie *Adenoviridae* mit den beiden Gattungen *Mastadenovirus* (Säuger, darunter der Mensch) und *Aviadenovirus* der Vögel. Die 51 durch den Neutralisationstest definierten Serotypen des Menschen besitzen ein Genus-spezifisches Antigen und können aufgrund biologischer und biochemischer Eigenschaften in sechs Subgenera (A–F) eingeteilt werden. Adenoviren sind von großer Bedeutung für Krankheiten verschiedener Organsysteme des Menschen (Tab. 6.2). Eine Tumorigenität für den Menschen wurde nicht nachgewiesen, obwohl die Typen 12, 18, 31 (Subgenus A) nach Injektion in neugeborene Hamster und andere Nager ein hohes onkogenes Potential besitzen.

Eigenschaften des Virus

Die Adenoviren sind ikosaedrische Viren von etwa 80 nm Durchmesser mit 252 Kapsomeren (s. Abb. 5.3) und einer doppelsträngigen linearen DNA mit etwa 35.000 Basenpaaren. Die Termini der viralen DNA sind kovalent mit einem terminalen Protein (TP) (Abb. 6.3) verbunden, das als Primer während der viralen DNA-Replikation fungiert. Im Gegensatz zu den meisten DNA-Viren kodiert das Adenovirus für basische, Histon-artige Proteine V, VII und X (μ) des Cores (s. Abb. 6.3). An den Scheitelpunkten tragen die Virionen antennenartige Fortsätze mit knopfartig verdickten Enden, sog. Fibern (s. Abb. 5.9 und 6.3), die der Anheftung der Viren an die Zelle dienen und als Hämagglutinine wirksam sind. Da die AV keine Hüllmembran besitzen, sind sie gegen Lipidlösungsmittel stabil und weisen auch sonst eine hohe Tenazität gegenüber Desinfektionsmitteln auf (praktische Konsequenzen für hygienische Maßnahmen!).
Die Oberflächenproteine des Virus, die auch als sog. lösliche Komponenten im Überschuß in der Zelle produziert werden, bestimmen die immunologischen Spezifitäten. Die Innenseite des

Tab. 6.2 Krankheiten, die auf Adenoviren zurückgeführt werden

Krankheit	Patientengruppe	Hauptserotypen	Bemerkungen
fieberhafte, uncharakteristische Infektionen des oberen Respirationstraktes	Säuglinge und Kleinkinder	1–3, 5–7	endemisch und epidemisch
Pharyngokonjunktivalfieber	Schulkinder	3, 7, 14	epidemisch (Schwimmbäder)
Tonsillitis	meist Kinder unter 3 Jahren	1, 2, 3, 5, 7	DD: Streptokokkentonsillitis
akute respiratorische Erkrankung	Rekruten	3, 4, 7, 14, 21	epidemisch
pertussisähnliches Syndrom	Säuglinge und Kleinkinder	5	
Pneumonie	Säuglinge, Kleinkinder, Rekruten, Immunsupprimierte	1–3, 7 4, 7, 14, 21 1–7, 11, 31. 34, 35	 epidemisch
epidemische Keratokonjunktivitis	alle Altersgruppen	8, 19, 37	z.B in augenärztlichen Praxen, ausgedehnte Epidemien in Schiffswerften, nosokomial
Gastroenteritis	Säuglinge und Kleinkinder	40, 41	
Darminvagination (mesenteriale Lymphadenitis)	Kleinkinder	1, 2 , 3 5	selten
akute, hämorrhagische Zystitis	Kinder Patienten nach Knochenmark- und Nierentransplantation	11, 21	überwiegend Jungen
Hepatitis	nach Lebertransplantation oder bei Immunsupprimierten	1, 2, 5, 7, 31	
Meningoenzephalitis	Kinder, Immunsupprimierte	3, 7	selten
generalisierte Infektion	Neugeborene	3, 7, 21 (zumeist aus Lunge und Leber isoliert)	nosokomial auf Neugeborenenstationen, hochletal

Hexons (das sind die 240 nicht an den Scheitelpunkten des Virions gelegenenen Kapsomere, Kapsidprotein II, s. Abb. 6.3) ist Träger des allen Mastadenoviren gemeinsamen, Genus-spezifischen Antigens α, das für den Antigen- oder Antikörpernachweis im ELISA, in der Komplementbindungsreaktion oder mit der Fluoreszenzantikörpertechnik diagnostische Bedeutung hat. Die Serotyp-spezifischen Antigene (Neutralisationstest) liegen im wesentlichen an der Außenseite des Hexons. Die Fibern (Kapsidprotein IV) enthalten das Antigen γ als Träger der hämagglutinierenden Aktivität und der Spezifität im Hämagglutinationshemmtest. Die 12 Scheitelkapsomeren am Virion werden als Pentonbasis bezeichnet (s. Abb. 6.3; Kapsidprotein III, Antigen β) und bedingen die früh im Verlauf der Infektion auftretende typische Zytotoxizität (s. Abb. 5.13).

Virusvermehrung

Replikation der Virus-DNA, Transkription und Adenovirusreifung finden im Zellkern statt. Die gespleißte mRNA (der Spleißprozeß wurde 1977 erstmals in einem Adenovirussystem entdeckt) wird im Zytoplasma translatiert.

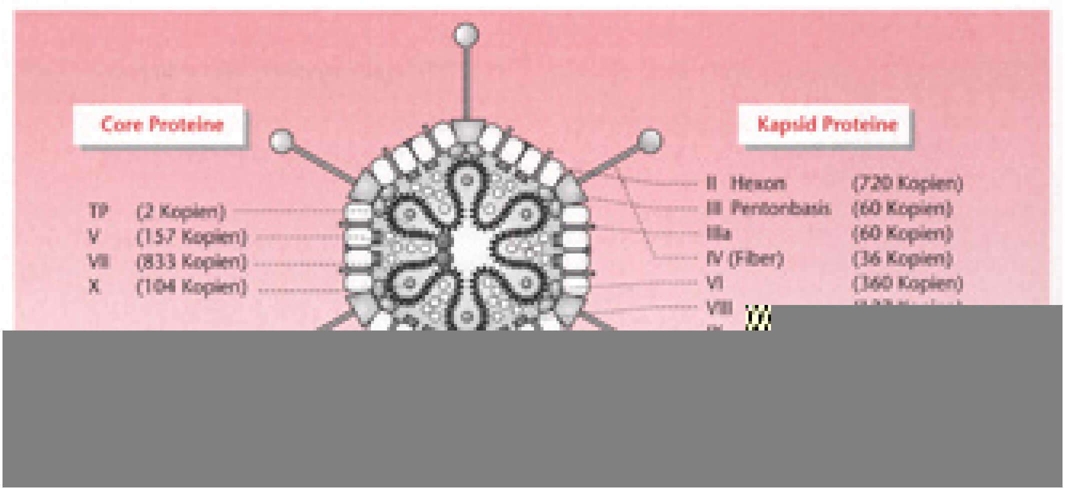


Abb. 6.3 Schema des Adenoviruspartikels (nach Stewart und Burnett).

Nach Adsorption an Zellrezeptoren via Fiber und Pentonbasis, die wesentlich den Zelltropismus der Adenoviren bestimmen, wird das Kapsid in komplexen Prozessen in Endosomen und auf dem Weg in den Zellkern abgebaut. Die in den Zellkern gelangte DNA exprimiert „frühe Gene", deren Proteine in hochregulierter Weise die Expression weiterer Virusgene bedingen, was wiederum erst die Virus-DNA-Replikation ermöglicht. Die ersten „frühen Gene" (E1A und E1B) sind notwendig für die oben erwähnte Zell-Transformation durch Adenoviren.
Die DNA-Replikation erfolgt ca. 7–8 Stunden nach Infektionsbeginn, die nun stattfindende „späte Genexpression" führt zu den Kapsidproteinen (s. Abb. 6.3), worauf dann die Virusreifung erfolgen kann. Wie schon erwähnt, werden Kapsidproteine im Überschuß produziert, die „löslichen" Kapsidproteine, die nicht ins Viruspartikel eingebaut sind.
Besonders erwähnt werden soll die Klasse der frühen E3 (E für early, früh)-Proteine, die für die Virusreplikation nicht erforderlich sind, aber im infizierten Organismus immunmodulatorische Funktionen ausüben, z.B. die Reduktion des Transports von Klasse I MHC-Komponenten an die Oberfläche infizierter Zellen (Abschwächung des Effekts von zytotoxischen T-Zellen) oder die Reduktion der Ansammlung von polymorphkernigen Leukozyten in der Frühphase der Entzündung.

Pathogenese

Adenoviren befallen vorwiegend Epithelzellen des Respirationstraktes, der Konjunktiva und des Dünndarms. Andere Organe können aber auch betroffen sein, z.B. Leber und Nieren (s. Tab. 6.2). Kürzlich wurde bei erwachsenen Patienten mit ätiologisch ungeklärter Dysfunktion des linken Ventrikels Adenovirus-DNA im Myokard mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) nachgewiesen (12 von 94 Patienten).
Unter anderem durch Beeinträchtigung der Syntheseprozesse in der Zelle kommt es zur Zellyse, und es resultieren Schleimhautläsionen. Das Virus gelangt in die ableitenden Lymphwege. Auch wenn eine Virämie bei AV-Infektionen selten zu sein scheint, so machen einzelne oben erwähnte Organmanifestationen eine Ausbreitung der Viren auf dem Blutwege wahrscheinlich, zudem sind AV aus dem Blut isoliert worden.
Die **Inkubationszeit** bei AV-Erkrankungen variiert (2–15 Tage), was bei der Vielzahl der Serotypen und Organmanifestationen verständlich ist. Für Atemwegsinfektionen werden 2–6 Tage, Darminfektionen 7–8 Tage und Augeninfektionen 8–10 Tage angegeben. Die schwere **Allgemeininfektion der Neugeborenen** kann allmählich, uncharakteristisch innerhalb von 10 Tagen oder später beginnen. Ein großer Teil aller AV-Infektionen verläuft subklinisch. Die Virusausscheidung, z.B. im Stuhl oder bei persistierender Harnwegsinfektion, kann Monate oder Jahre anhalten.
In **adenoidem Gewebe** (s. Einleitung) kann eine latente Infektion sensu strictiori vorliegen, d.h. obwohl die Zelle wenig bis viele Genomäquivalente enthält, ist infektiöses Virus nicht nachzuweisen (s. Kap. 5.1.10). Erst bei längerer Kultivierung des Gewebes (30–40 Tage) können infektiöses Virus und ein zytopathischer Effekt auftreten.

Klinik

Die verschiedenen klinischen Bilder sind in Tab. 6.2 aufgeführt.
Die **akuten Infektionen des Respirationstraktes** unterscheiden sich klinisch nicht von solchen durch andere Viren hervorgerufenen. Sie manifestieren sich als Schnupfen, Tonsillitis, akute Otitis media, Fieber ohne definitive Organmanifestation, Laryngitis bis hin zur Pneumonie. Differentialdiagnostisch sind AV-Tonsillitis und Streptokokkenangina aus therapeutischen Gründen genau zu beachten, klinisch allein aber

handlung, Knochenmark-, Nieren-, Lebertransplantation, HIV-Patienten). In hohem Maße (bis 30–40%) können Adenoviren aus dem Rachen, Stuhl, Urin oder auch dem Blut isoliert werden. Die Zuordnung von gravierenden Symptomen wie hohem Fieber, Enzephalitis, fulminanter Pneumonie, Leberversagen, Kolitis oder Nephritis zur AV-Infektion mag im Einzelfall schwierig sein, trotzdem wird die ursächliche Bedeutung der Infektion für einen tödlichen Ausgang kaum zu bezweifeln sein.

führt, so daß nach 3 Tagen auch der AV-Typ bestimmt war. Die PCR, rechtzeitig angewandt, bietet die Möglichkeit der frühzeitigen Feststellung von Erregerclustern und damit Prävention nosokomialer Ausbrüche.
Proben für den Virusnachweis sollten so früh wie möglich nach Krankheitsbeginn entnommen werden. Biopsiematerial etc. sollte in Transportmedium gegeben werden. Obwohl Adenoviren relativ stabil sind, ist Lagerung und Transport auf Eis (nicht eingefroren) zu empfehlen, um die Nachweischancen zu verbessern.
Der **Antikörpernachweis** erfordert wie üblich eine Früh- und Spätblutprobe, um möglichst einen Antikörperanstieg in der KBR oder dem ELISA (Genus-spezifisch) zu erfassen. Die diagnostische Aussage ist begrenzt, zumal bei Kleinkindern Serokonversionen manchmal ausbleiben.

Epidemiologie und Prävention

Adenovirus-Infektionen werden durch direkten Kontakt, Aerosole, fäkal-oral (z.B. Schmierinfektion über die Hand) und auch durch Wasser

STEWART P. L. and R. M. BURNETT: Adenovirus Structure by X-ray Crystallography and Electron Microscopy. In: DOERFLER, W. and P. BÖHM: The Molecular Repertoire of Adenoviruses. Current Topics in Microbiology and Immunology Vol. 199/I. Springer, Berlin 1995.

WADELL, G.: Adenoviruses. In: ZUCKERMAN, A. J., J. E. BANATVALA, and J. R. PATTISON: Principles and Practice of Clinical Virology, 4th ed., JOHN WILEY and Sons, Chichester 2000.

6.4 Herpes-Viren

KARL-EDUARD SCHNEWEIS

Einleitung

In der Familie der Herpesviridae sind nahezu 100 Viren zusammengefaßt, die beim Menschen und bei verschiedenen Wirbeltieren vorkommen. Sie werden nach ihren biologischen Eigenschaften (Wirts- und Wirtszell-Spezifität, Art der produktiven und latenten Infektion) in drei Unterfamilien (α-, β- und γ-Herpesviren) aufge-

Knospung („budding“) durch die innere Lamelle der Kernmembran eine Hülle. Diese besteht aus der zellulären Lipid-Doppelmembran, in der die für den Infektionsvorgang erforderlichen viralen Glykoproteine verankert sind und nach außen in Form von kurzen „Spikes“ exponiert werden. Die Hülle, die bei der Passage durch das endoplasmatische Retikulum und den Golgi-Apparat einer Reifung unterliegt, verleiht den aus der Zelle frei werdenden Virionen eine variable Größe von durchschnittlich 180 nm. Sie bedingt die Empfindlichkeit der Viren gegenüber lipidlösenden Reagenzien und ihre eingeschränkte Überlebensfähigkeit außerhalb eines Wirtsorganismus. Die Infektion erfolgt, indem spezifische Rezeptoren der Hüllglykoproteine an passende Rezeptoren der Zellmembran binden **(Adsorption).** Die anschließende **Fusion** zwischen Virushülle und Zytoplasma-Membran wird ebenfalls durch spezifische Glykoprotein-Strukturen der Virushülle bewirkt. Sie ermöglicht die **Penetration** des Nukleokapsids mitsamt dem Tegument in die Zelle. Das Nukleokapsid erreicht über die Mikrotubuli die Kernporen, an denen es die Virus-DNA freigibt. Diese nimmt, nachdem sie in das Kernplasma gelangt ist, Ringform an. Die bei der Initiation des Virusstoffwechsels wirksamen Tegumentproteine, beim HSV u.a. das α-TIF (α-transinducing factor = Virus-Protein [VP]-16), werden mit Hilfe ihrer Kerntransportsignale in den Zellkern eingeschleust. Die Virus-DNA wird nach dem Prinzip des *„rolling circle“* repliziert (s. Kap. 3.3.3 und Abb. 6.8). Die viralen Proteine werden kaskadenartig in drei aufeinander folgenden Stufen gebildet: α-, β- und γ-Proteine = immediate early (IE), early bzw. late antigens. Die α-Proteine sind durchweg Transaktivator- und Regulatorproteine. Beim kulturellen Nachweis von CMV sind sie eine wesentliche Hilfe für eine beschleunigte Diagnose (s. Abb. 5.14). Die β-Proteine sind meist Enzyme, darunter z.B. die für die Chemotherapie der HSV- und VZV-Infektionen sowie bei der onkolytischen Gentherapie wesentliche Thymidinkinase (s. Abb. 5.30). Erst die γ-Proteine sind die eigentlichen Virusstruktur-Proteine. Ein Beispiel ist das Phosphoprotein pp65, ein Tegumentprotein des CMV, das eine große Rolle bei der Schnelldiagnose der CMV-Infektion spielt (s.a. 6.4.3). Bemerkenswert ist auch, daß bei den α-Herpesviren, die sich durch eine besonders schnelle und reichliche Virusproduktion auszeichnen, im Tegument ein „Virus-host shut off (Vhs)“-Protein vorkommt, das den Zellstoffwechsel zugunsten des Virusstoffwechels unterdrückt.

Die für die Pathogenese wichtigste Gemeinsamkeit der Herpesviren ist ihre Fähigkeit, im einmal befallenen Organismus in latenter Form zu persistieren und nach Reaktivierung rekurrierende Infektionen hervorzurufen.

Die Mechanismen, die dieser Persistenz zugrunde liegen, sind bei den einzelnen Herpesviren allerdings recht verschieden.

Literatur:

ROIZMAN, B.: Herpesviridae. In FIELDS, B.N., D. M. KNIPE, and P. M. HOWLEY (Eds.): Virology, Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, 1996

MODROW, S. und D. FALKE: Molekulare Virologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 1997

6.4.1 Herpes simplex Virus (HSV) 1 und 2

KARL-EDUARD SCHNEWEIS

Nomenklatur

Die kriechende, schlängelnde Ausbreitung (griech. herpo, lat. serpo = kriechen) der Haut- und Schleimhaut-Effloreszenzen des HSV, die bei der *Keratitis dendritica* besonders ausgeprägt ist, hat dem Virus und damit der ganzen Virusfamilie den Namen gegeben. Der Beiname „simplex“ grenzt die durch das HSV ausgelösten Erkrankungen von ähnlich aussehenden Exanthemen ab, z.B. vom Herpes zoster (ältere Bezeichnung für den vom VZV hervorgerufenen Zoster) oder vom Herpes gestationis, einer nicht virusbedingten, autoimmunologischen Erkrankung in der Schwangerschaft. Auch die Dermatitis herpetiformis (DUHRING) hat nichts mit einer Virusinfektion zu tun, und die Herpangina wird durch Enteroviren hervorgerufen.

Eigenschaften

Die beiden Typen des HSV, HSV-1 und HSV-2, deren getrennte Entwicklung 8 Millionen Jahre zurückdatiert wird, sind noch nahe verwandt: Bei 73 der 74 Gene betragen die nicht-synonymen Basense-

quenz-Divergenzen nur 3 bis max. 33%, und nur das diagnostisch bedeutsame Hüllglykoprotein G von HSV-2 (gG-2) besitzt eine Sequenz von nahezu 500 Aminosäuren, die beim HSV-1 fehlt. Bei Untersuchung mit polyklonalen Immunseren zeigen die beiden HSV-Typen eine starke Kreuzreaktion. Heute können sie aber leicht mit typenspezifischen monoklonalen Antikörpern, durch Analyse ihrer DNA mit Restriktionsenzymen oder anhand der Größendifferenz einzelner Proteine sowie durch eine Reihe biologischer Eigenschaften voneinander unterschieden werden.

Der wichtigste medizinische Unterschied zeigt sich in der Lokalisation der Erkrankungen: HSV-1 kommt ganz überwiegend in der *orofazialen*, HSV-2 in der *genitalen* Körperregion vor.

Diese Trennung wird aber nicht durch eine bevorzugte Infektiosität für die betreffenden Schleimhäute aufrecht erhalten, sondern durch Besonderheiten bei der Reaktivierung des Virus in den Ganglien der betroffenen Körperregion: genitale HSV-1-Infektionen rezidivieren seltener als genitale HSV-2-Infektionen, und bei den oralen Infektionen ist es umgekehrt.
Im Gegensatz zu den anderen humanen Herpesviren hat HSV ein relativ breites Wirtszellspektrum und kann daher leicht in vielen verschiedenen Zellkulturen, im embryonierten Hühnerei und in mehreren Versuchstierarten vermehrt werden. In Zellkulturen erzeugt es einen charakteristischen „cytopathic effect“ (CPE), der aus großen abgerundeten Zellen besteht, auf der Chorioallantoismembran des Hühnereies zarte weiße Läsionen (sog. „pocks“). Im Versuchstier bewirkt es neben lokalen Symptomen am Infektionsort häufig eine tödliche Enzephalitis. Bei histo-, bzw. zytologischer Untersuchung stellen sich in den vom Virus befallenen Zellen typische intranukleäre Einschlüsse dar.

Klinik und Pathogenese

Infektionen mit HSV-1

Die **Primärinfektion** mit HSV erfolgt meist mit HSV-1 auf der Mundschleimhaut (Abb. 6.4). Die Virusproduktion in den Schleimhautepithelien, die schon nach 1 bis 2 Tagen einsetzt, bleibt zunächst inapparent. Eine lebensbedrohliche Virusgeneralisation durch lymphohämatogene Streuung wird durch die von viralen Faktoren aktivierte unspezifische Infektabwehr (Makrophagen, NK-Zellen, Interferon (IFN)-α) verhindert. Dadurch kommt die **neurale Ausbreitung** des Virus zur Geltung. Wie bei dem normalen Infektionsvorgang (s. 6.4) dringt es in die Endigungen der sensiblen und autonomen Nerven ein und erreicht als vom Tegument umgebenes Nukleokapsid über axonalen Transport (2,2 µm/sec) das Ganglion Gasseri und die zugehörigen autonomen Ganglien schon 2–3 Tage nach Beginn der peripheren Virusvermehrung.

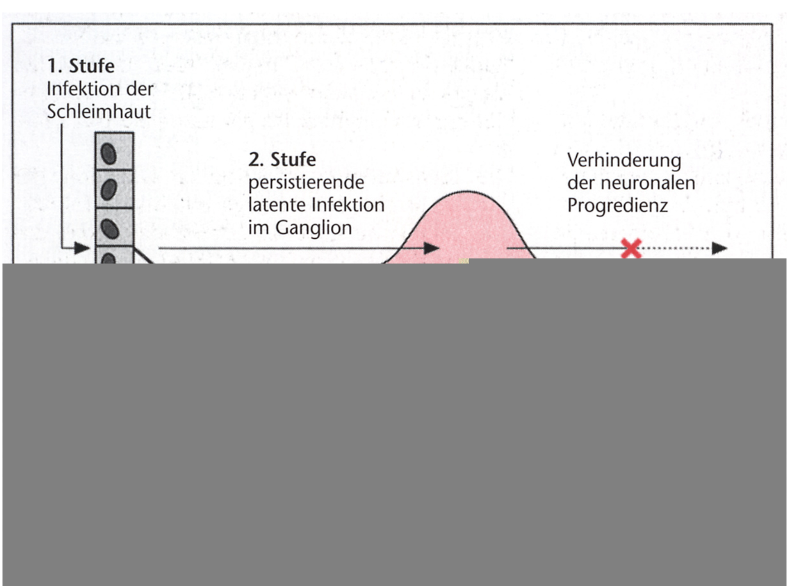


Abb. 6.4 Stufenschema zur Pathogenese der Herpes simplex Virus-Infektion.

wird nicht einheitlich beantwortet. In besonderen Fällen kann eine Chemoprophylaxe gegen Varizellen – evtl. zusätzlich zur passiven Immunprophylaxe – angezeigt sein.

Immunität

Die Varizellen hinterlassen eine lebenslange Immunität. Inapparente Reinfektionen, die infolge passagerer Virusvermehrung im Oropharynx zu Titeranstiegen der VZV-Antikörper führen, kommen vor, eine zweite Varizellen-Erkrankung infolge einer exogenen Reinfektion scheint jedoch nur möglich, wenn die erste Infektion unter der Einwirkung mütterlicher Antikörper abgeschwächt verlief. Der Zoster generalisatus sieht den Varizellen zwar sehr ähnlich, muß aber als endogenes Rezidiv davon abgegrenzt werden. Zur Immunprophylaxe s. unter „Prophylaxe".

Epidemiologie

Die hohe **Kontagiosität** des VZV beruht auf der vom Oropharynx ausgehenden Tröpfcheninfektion. Daneben spielt aber auch die vom Bläscheninhalt ausgehende Schmierinfektion eine Rolle. Die Übertragungsrate unter empfänglichen Geschwistern liegt bei 90%, in Kindergärten und Schulklassen zwischen 10 und 35%. Die **Infektiosität** beginnt mit der Virusproduktion auf der Schleimhaut schon zwei Tage vor Ausbruch des Exanthems und dauert bis zum Verschorfen der letzten Bläschen. Die Durchseuchung erfährt nach dem Erlöschen der von der Mutter mitgegebenen Immunität ab dem 3. Lebensjahr einen steilen Anstieg und erreicht schon im Adoleszentenalter 80–90%. In den Tropen verläuft sie stark verzögert, so daß in diesen Ländern noch 50% der jungen Erwachsenen empfänglich sind. In unseren Breiten ist im Frühjahr eine ausgesprochene Häufung an Varizellen-Erkrankungen zu beobachten. Die Inzidenz des Zoster beträgt im ersten Lebensjahrzehnt 0,7/1000/Jahr, im mittleren Lebensalter 1–2/1000/Jahr und steigt dann auf ca. 11/1000/Jahr bis zum 9. Lebensjahrzehnt an. Mit Erreichen des 85. Lebensjahres hat etwa jeder Zweite einen Zoster durchgemacht.

Prophylaxe

Eine Expositionsprophylaxe ist wegen der Kontagiosität im Prodromalstadium ineffektiv. Zur **passiven Immunprophylaxe** der Varizellen wird ein Immunglobulin verwendet, das von Personen mit hohen spezifischen Antikörper-Titern gewonnen wird, d.h. in der Regel von Zoster-Rekonvaleszenten (daher auch „Zoster-Immunglobulin [ZIG]") stammt. Zur Verhinderung der Krankheit muß es frühzeitig (spätestens 3 Tage nach dem Kontakt und allenfalls unterstützt von einer Chemoprophylaxe) injiziert werden. Bei späterer Anwendung kann nur noch eine Abschwächung der Krankheit erreicht werden.
Zur **aktiven Immunisierung** steht ein „Lebend"-Impfstoff mit dem attenuierten Virusstamm „Oka" zur Verfügung. Die Konversionsrate beträgt 94%. 3,4% der Impflinge entwickeln an der Injektionsstelle ein lokalisiertes und 3,8% ein nicht-lokalisiertes Varizellen-Exanthem. Das Impfvirus ist in Ausnahmefällen übertragbar, geht in eine latente, persistierende Infektion über und kann nach Reaktivierung einen abgeschwächten Zoster auslösen. Obwohl die Impfung eine der Wildvirus-Infektion gleichwertige zellvermittelte Immunität induziert, wurde die Impfimmunität nach 0,6–11 Jahren in 21% der Fälle durch eine abgeschwächt verlaufende Wildvirus-Infektion durchbrochen. Eine mögliche Erklärung hierfür bietet die unzureichende Fähigkeit der Impfung, im Oropharynx sekretorische IgA zu induzieren. Die Impfung wird empfohlen für Kinder im Alter von 12–18 Monaten, für ältere seronegative Kinder bis zum 13. Lebensjahr, für seronegative Frauen im gebärfähigen Alter (s.u.) sowie für seronegative Erwachsene, die Kontakt zu empfänglichen, immuninkompetenten oder an Neurodermitis leidenden Kindern haben. Für diese gefährdeten Kinder selbst, die bei einer Wildvirus-Infektion lebensbedrohlich erkranken können, besteht unter Beachtung der klinischen Voraussetzungen eine dringende Impfindikation. Die Impfung kann auch als Postexpositionsprophylaxe bis zu 3 Tagen nach Varizellen-Kontakt eingesetzt werden. Die s.c. Applikation der Impfvirus-Dosis gewährleistet, daß bereits 7 Tage nach der Impfung neutralisierende Antiköper nachweisbar sind und der Ausbruch der Wildvirus-Infektion verhindert oder abgeschwächt wird.

Varizellen und Schwangerschaft
Wegen der frühzeitigen hohen Durchseuchung mit dem VZV sind Varizellen in der Schwangerschaft selten (0,5–0,7 auf 1000 Schwangerschaften). Die Gefahren-Situation nach Varizellen- oder Zoster-Kontakt einer Schwangeren mit un-

klarem Immunstatus ist aber ein häufiges Ereignis.

Es gibt zwei verschiedene Risiken: Die Varizellen-Embryopathie bei Varizellen in der ersten Hälfte der Schwangerschaft und die Neugeborenen-Varizellen bei perinataler Infektion.

Die Varizellen-Embryopathie (kongenitales Varizella-Syndrom)

Das Risiko einer fetalen Infektion ist mit der Virämie bei der Schwangeren und der Fähigkeit des VZV, die Plazenta zu durchdringen, grundsätzlich gegeben. Es steigt von 5% (0.–12. SSW) über 10% (13.–24. SSW) auf 25% (25.–36. SSW) an. Dementsprechend ist die symptomatische fetale Infektion, die Varizellen-Embryopathie, bei Müttern, die bis zur 12. SSW an Varizellen erkrankten, mit 0,4% gering, steigt dann aber zwischen der 13. und 20. SSW auf 2% an. Nach der 20. SSW bleiben die Embryopathien trotz weiterer Zunahme der fetalen Infektionsrate aus. Da ein effektiver Transport mütterlicher IgG-Antikörper durch die Plazenta erst nach der 20. SSW zustande kommt, liegt es nahe, den benignen Verlauf der fetalen VZV-Infektion in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft mit einer passiven Immunisierung des Feten durch mütterliche Antikörper in Zusammenhang zu bringen.

Neben charakteristischen narbigen Hautveränderungen kommt es bei der Varizellen-Embryopathie zu Hypoplasien der Extremitäten, Mikrozephalie und schweren Augenschäden. Auf die asymptomatischen fetalen Infektionen folgen oft Zoster-Erkrankungen im 1. Lebensjahr. Zur Verhütung der Varizellen-Embryopathie muß

Die perinatale Varizellen-Infektion

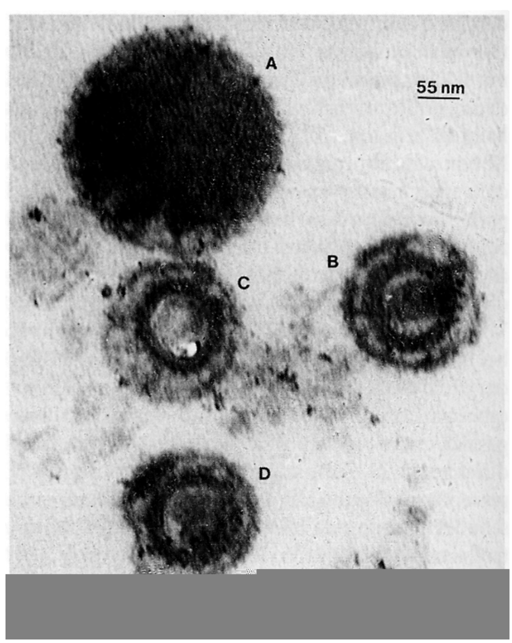
Wenn eine Frau sieben oder weniger Tage vor der Geburt oder bis zwei oder weniger Tage nach der Geburt an Varizellen erkrankt, kann das Kind infiziert werden, ehe die Mutter Antikörper bildet und diese an das Kind weitergeben kann. In diesen Fällen verlaufen die Varizellen des Neugeborenen oft sehr schwer und lebensbedrohlich. Um dem vorzubeugen, kann man die Geburt entsprechend hinauszögern, muß dabei aber einkalkulieren, daß nach dem Erscheinen der Antikörper im Serum der Mutter 1–2 Tage für den diaplazentaren Transport der Antikörper erforderlich sind. Andernfalls muß dem Neugeborenen unverzüglich VZV-Immunglobulin verabreicht werden. Da der Antikörper-Spiegel selbst nach wiederholter Gabe relativ niedrig bleibt und trotz Immunglobulingabe in 14% der Fälle schwere Verläufe vorkommen, empfiehlt sich eine zusätzliche ACV-Therapie, evtl. schon vor der Geburt durch Verabreichung an die Mutter. Postnataler Varizellen- oder Zoster-Kontakt des Neugeborenen ist nur dann unbedenklich, wenn die Mutter dem Kind VZV-Antikörper mitgeben konnte.

Ein Zoster der Schwangeren ist wegen der vorgegebenen VZV-Antikörper unproblematisch. Beiden Problemen, sowohl der Varizellen-Embryopathie als auch den Neugeborenen-Varizellen kann durch eine aktive Impfung begegnet werden (s.o. Prophylaxe).

Literatur:

ARVIN, A.M.: Varizella-Zoster Virus. Clin. Microbiol. Rev. 9 (1996) 361–381

6



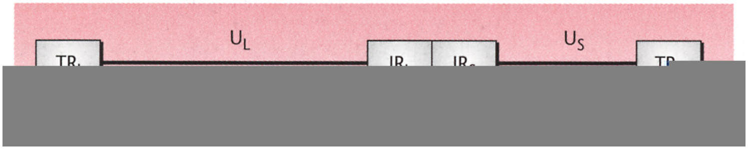


Abb. 6.7 HCMV-Genom

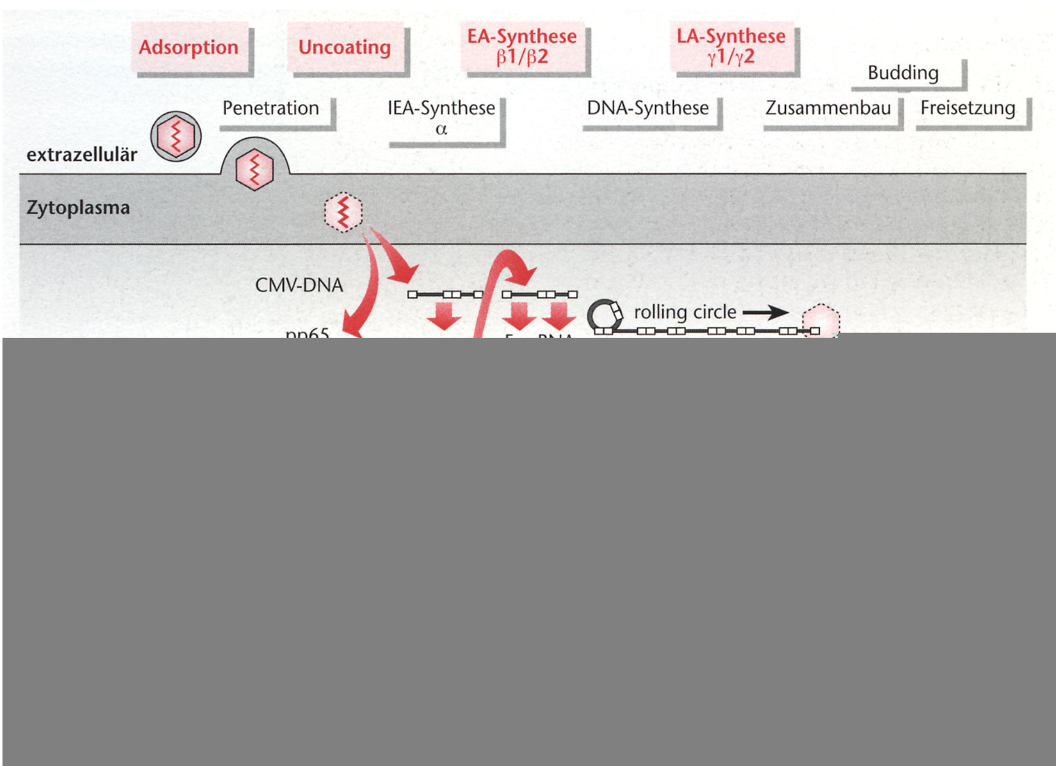
Komplex häufigster Bestandteil der Virushülle (> 50%). Dieses gB-Antigen ist auch an der Zelloberfläche HCMV-infizierter Zellen zu finden und ist ein stark immunogenes Protein, das die Synthese von virusneutralisierenden Antikörpern induziert. Die Synthese von anti-gB beginnt während der Primärinfektion erst relativ spät (50–100 Tage), wohingegen sie bei der Reaktivierung sofort einsetzt. Diese Tatsache trägt zur Aussaat von HCMV während der Primärinfektion bei und erlaubt die diagnostische Differenzierung zwischen HCMV-Primärinfektion und HCMV-Reaktivierung.

Die neutralisierende Aktivität in menschlichen Seren kann durch gB weitestgehend absorbiert werden. Das gB gilt seit langem als geeignetster Kandidat für eine Subunit-Vakzine. Das gB-Gen hat 2 hochvariable Regionen, die eine Einteilung von Virusisolaten in gB-Varianten erlauben. Eine Korrelation zwischen gB-Typ und klinischer Erkrankung wird von manchen vermutet, ist aber nicht belegt. Unterschiedliche HCMV-Genotypen, auch hinsichtlich neutralisationsrelevanter Epitope, können bei einem Individuum nachgewiesen werden. Dies belegt die Möglichkeit exogener Reinfektionen (z.B. bei Transplantationen) und legt den Schluß nahe, daß Seropositivität nicht notwendigerweise mit einem sicheren Schutz vor einer HCMV-Superinfektion einhergeht. Auch Antikörper-Analysen ergaben, daß bei ca. 20% der Bevölkerung Expositionen mit mehreren HCMV-Stämmen stattgefunden haben.

Vermehrung

HCMV adsorbiert an bislang unbekannte Rezeptoren der Zellmembran und gelangt nach Fusion der Virushülle mit der zellulären Plasmamembran in das Zytoplasma. Kaskadenartig mit strenger zeitlicher Abfolge laufen in der infizierten Zelle dann die folgenden Syntheseschritte ab (Abb. 6.8):

- Die **α-Gen-Expression** in der sehr frühen (immediate early, IE) Phase führt zur Bildung viraler Funktionsproteine, die für die Regulation der Transkription viraler, aber auch zellulärer Gene in der HCMV-infizierten Zelle wichtig sind (z.B. IE72, IE86)



- In der **β-Gen-Expression** in der frühen (early, E) Phase kommt es u. a. zur Synthese von Proteinen, die für die virale DNA-Replikation erforderlich sind, z.B. der viralen DNA-Polymerase (pUL54), welche auch das zur Zeit wichtigste Zielmolekül der antiviralen Chemotherapeutika darstellt. Neben weiteren enzymatisch aktiven Genprodukten, wie der Proteinkinase (pUL97), die aber erstaunlicherweise auch Nukleosidanaloga phosphorylieren kann, werden auch bereits einige Strukturproteine synthetisiert
- Die virale **DNA-Synthese** erfolgt nach Zirkularisierung des Moleküls nach dem Prinzip des „rolling circle"
- Die **γ-Gen-Expression** läßt sich unterteilen in eine early/late Phase mit Synthese u. a. des Phosphoproteins pp65 der späteren Matrix und in eine späte (late) Phase, in der nach Beginn der viralen DNA-Synthese die Strukturproteine des Viruskapsids und die Glykoproteine der Virushülle gebildet werden.

Während der Virusreifung akkumulieren Virusbestandteile im Zellkern (Kapside/Nukleokapside), die sich nach Anfärbung als Kerneinschlüsse darstellen lassen und lichtmikroskopisch als die „Eulenaugen"-Veränderungen zu beobachten sind (s.o.). Erste reife Partikel von HCMV finden sich in infizierten Zellen 48 Stunden p.i. mit einem Maximum der Produktion zwischen 72 und 96 Stunden nach der Infektion.

Klinik

Pränatale Infektion

HCMV ist heute der Haupterreger einer intrauterinen Infektion des Feten (0,2–2,2%).

Bei der Primärinfektion einer Schwangeren (1–4% der Schwangerschaften) liegt die Rate der diaplazentaren fetalen Infektionen zwischen

Perinatale oder frühpostnatale Infektion

Die Infektion erfolgt unter der Geburt (Zervikalsekret) oder über die Muttermilch. Die Infektion verläuft bei den reifen Neugeborenen asymptomatisch bzw. oligosymptomatisch, ist aber von einer langjährigen HCMV-Ausscheidung begleitet. Diese Kinder sind eine bedeutende Infektionsquelle! Bei Frühgeborenen besteht auch nach postnataler Infektion ein hohes Risiko, an einer schweren systemischen HCMV-Infektion zu erkranken.

Postnatale Infektion

Bei immungesunden älteren Kindern und Erwachsenen ist die HCMV-Primärinfektion selten symptomatisch. Etwa 90% der Infektionen verlaufen inapparent. Wenn nach einer Inkubationszeit von 20–60 Tagen klinische Zeichen auftreten, dann handelt es sich höchstens um Fieber und/oder eine mononukleoseähnliche Symptomatik. Endogene Reaktivierungen mit Virusausscheidung, die von Zeit zu Zeit in Abhängigkeit von der aktuellen Immunkontrolle der Infektion durch den Organismus ablaufen, werden im allgemeinen nicht bemerkt. Dennoch häufen sich Befunde, wonach HCMV möglicherweise auch bei Immungesunden in Zellen der Gefäßwände Veränderungen verursachen kann, die zur Entstehung der Atherosklerose und zur Entwicklung der Re-Gefäßstenose beitragen.

Manifestationen bei Immunsuppression

Bei immundefizienten und immunsupprimierten Patienten ist die Schwere der Erkrankung abhängig vom Ausmaß der Beeinträchtigung des

Analogon des Guanosins (Hauptnebenwirkung: dosisabhängige Knochenmarksdepression)
- **Foscarnet** (Phosphono-Ameisensäure, PFA, Foscavir®), ein Pyrophosphat-Analogon (Hauptnebenwirkung : Nephrotoxizität)
- **Cidofovir** (HPMPC, Vistide®), ein Analogon des Zytosin-Monophosphats (Hauptnebenwirkung: ausgeprägte Nephrotoxizität).

Das differente Spektrum der Nebenwirkungen von GCV und PFA sowie der *in vitro* gezeigte synergistische Effekt beider Substanzen legen eine Kombinationstherapie in kritischen Situationen nahe, die teilweise auch erfolgreich angewendet wird. Der Einsatz dieser Substanzen beim immunkompetenten Patienten ist nicht erforderlich, und die Anwendung in der **Schwangerschaft** wird, sofern eine Primärinfektion überhaupt erkannt wird, z.Zt. nicht empfohlen. Eine Behandlung der HCMV-Primärinfektion während der Schwangerschaft mit Hyperimmunglobulin kann in Erwägung gezogen werden. Die Behandlung kongenitaler und neonataler HCMV-Erkrankungen mit GCV bei immunkompetenten und teilweise bei immundefizienten Kindern, bei allerdings höherer Dosis und längerer Therapiedauer, ist möglich, offensichtlich auch mit positiven Ergebnissen hinsichtlich progredienter Schädigungen.

Der erfolgreiche Einsatz der genannten Virustatika ist für immunsupprimierte Patienten (KMT-, AIDS- und Patienten nach Transplantation solider Organe) gut belegt. Generell ist dabei aber zu beachten, daß es bei Immundefizienz und bei ständig abnehmender Immunkompetenz, wie bei HIV-Infizierten, unter der erforderlichen Langzeitherapie (> 3 Monate) vermehrt zur Selektion **therapieresistenter Varianten** kommen kann. Die resistenzvermittelnden Mutationen betreffen je nach Substanz und Wirkmechanismus die virale Polymerase und/oder das UL97-Gen, welches für eine Proteinkinase kodiert, die aber in der Lage ist, Nukleosidanaloga wie GCV zum Monophosphat zu phosphorylieren. Für die Therapieindikation ist neben der Klinik die HCMV-Last im Blut entscheidend, da Infektionen oft asymptomatisch sind und eine bestehende Organmanifestation nicht immer leicht als HCMV-Erkrankung zu erkennen ist. Zur Indikation und zum Therapiemonitoring eignen sich der quantitative HCMV-pp65-Antigennachweis und der quantitative HCMV-DNA-Nachweis mittels PCR in peripheren Blutzellen.

Epidemiologie

HCMV ist weltweit verbreitet, wobei der Mensch einziger Wirt des Virus ist (s.o. strenge Wirtsspezifität). Die Übertragung bei postnataler Infektion erfolgt bei engen Kontakten (Schmierinfektion, Sexualkontakte) mit HCMV-seropositiven Personen überwiegend durch Speichel, Urin und genitale Ausscheidungen. Pränatal erfolgt die Infektion transplazentar (hämatogen) und perinatal durch Zervixsekret während der Geburt oder anschließend durch Muttermilch. Zunehmend bedeutsam werden bei Risikopatienten außerdem die iatrogenen Übertragungen durch transfundiertes Blut oder transplantierte Organe von HCMV-seropositiven Spendern.

Die natürlichen Durchseuchungsgipfel liegen im Neugeborenenalter/Kleinkindesalter und im jungen Erwachsenenalter. Abhängig vom geographischen Gebiet und dem soziohygienischen Status liegen die Durchseuchungsraten weltweit zwischen 40 und 100%. In Ländern mit hoher Durchseuchung wird das Maximum oft schon im Kindesalter erreicht.

Prophylaxe

Die **aktive Immunisierung** ist bis heute noch nicht zufriedenstellend möglich. Diese Maßnahme ist aber weiterhin unbedingt erstrebenswert, z.B. um die HCMV-Primärinfektion in der Schwangerschaft und damit verbunden eine mögliche intrauterine HCMV-Infektion zu verhindern. Die Vakzination mit dem attenuierten Laborstamm HCMV-Towne, mit rekombinanten attenuierten Laborstämmen und in den letzten Jahren auch mit HCMV-Subunitvakzinen (HCMV-gB-Vakzine), sind in Erprobung, haben aber die Erwartungen bisher noch nicht erfüllen können.

Für die **passive Immunisierung** stehen Hyperimmunglobulin-Präparate mit hohen Antikörpertitern (ELISA) gegen HCMV zur Verfügung, für deren Wirksamkeit aber maßgeblich die Menge der neutralisierenden HCMV-Antikörper verantwortlich ist. Dieses entscheidende Kriterium wurde anfänglich zu wenig beachtet. Dies mag auch ein Grund sein, weshalb die Verabreichung von Hyperimmunglobulin zur Verhinderung der HCMV-Erkrankung bei Transplantationspatienten in der Vergangenheit zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt hat. Exogene Mehrfachinfektionen und die inzwischen bekannten unterschiedlichen neutralisa-

tionsrelevanten Epitope am Glykoprotein B belegen, daß u.U. zusätzlich auch die Genotypenspezifität der neutralisierenden Antikörper zu berücksichtigen ist. In Studien ist mittlerweile gezeigt worden, daß das Auftreten schwerer HCMV-Manifestationen, z.B. bei Nierentransplantationspatienten und teilweise bei knochenmarktransplantierten Patienten, unter dieser prophylaktischen Maßnahme reduziert werden kann.
Neben der Hyperimmunglobulinprophylaxe ist heute mit der prophylaktischen Gabe von antiviralen Substanzen eine weitere Möglichkeit gegeben, eine Reduktion der HCMV-Erkrankungen bei Transplantationspatienten zu erreichen. Diese Behandlung wird, wenn die Nebenwirkungen akzeptiert werden können, aufgrund der niedrigeren Kosten einer Hyperimmunglobulinprophylaxe vorgezogen. Eine Verbesserung gegenüber der isolierten GCV-Prophylaxe bei Patienten nach solider Organtransplantation ist die kombinierte Gabe von GCV und Immunglobulin. Für hochdosiert verabreichtes Aciclovir (ACV) wird in einzelnen Studien bei Transplantationspatienten ebenfalls ein prophylaktischer Effekt gegenüber HCMV beschrieben, obwohl ACV bei HCMV-Infektionen therapeutisch nicht wirksam ist.

Literatur:

BRITT, W. J. and CH. A. ALFORD: Cytomegalovirus. In: FIELDS Virology, Lippincott-Raven Publishers, 2493–2523, 3rd ed., 1996

EINSELE, H., H. HERBART, T. BOCK, C. MULLER, B. FLECKENSTEIN, M. MACH, T. STAMMINGER, G. JAHN, C. SINZGER, U. KOSZINOWSKI, U. MEYER-KÖNIG, T. MERTENS, B. PLACHTER, M. J. REDDEHASE, C. A. SCHMIDT: Recommendations for the diagnosis and therapy of cytomegalovirus infection after stem-cell transplantation. The Research Alliance on the complications of organ transplantation due to herpes viruses. Dtsch. Med. Wochenschr. **124** (1999) 501–506

EGGERS, M., U. BADER and G. ENDERS: Combination of the microneutralization and avidity assays: Improved diagnosis of recent primary human cytomegalovirus infection in single serum samples of second trimester pregnancy. J. Med. Virol. **60** (2000) 324–330

HAMPL, W., D. MICHEL und TH. MERTENS: Die HCMV-Erkrankung bei AIDS: Klinisches Erscheinungsbild, Diagnostik und Therapie. In: W. HEISE: Die CMV-Erkrankung, Media Bibliothek, 7–36, 1998

KLEIN, M., K. SCHOPPEL, N. AMVROSSIADIS, and M. MACH: Strain-specific neutralization of human cytomegalovirus isolates by human sera. J. Virol. **73** (1999) 878 -886

MOCARSKI, E. S. JR.: Cytomegaloviruses and Their Replication. In: FIELDS Virology, Lippincott-Raven Publishers, 2447–2492, 3rd ed., 1996.

ZIMMERMANN, A., D. MICHEL, and TH. MERTENS: Drug Resistance and the UL97 Gene of Human Cytomegalovirus. In: SCHOLZ, M. et al. CMV-Related Immunopathology. 180–192, Karger Basel 1998.

6.4.4 Humanes Herpesvirus 6 und 7 (HHV-6 und HHV-7)

KARL-EDUARD SCHNEWEIS

Die Entdeckung der humanen T-lymphotropen Viren setzte die gezielte Anwendung der Kultur von humanen T-Lymphozyten und die Kenntnis und Verfügbarkeit der dazu notwendigen Wachstumsfaktoren voraus. Nach den humanen T-lymphotropen Retroviren HTLV-I und II sowie dem HIV wurde 1986 auch ein T-lymphotropes Herpesvirus, das **HHV-6**, aus Lymphozyten-Kulturen von Patienten mit lymphoproliferativen Erkrankungen, die z.T. mit HIV-infiziert waren, angezüchtet. Das Virus besaß die typischen Eigenschaften eines Herpesvirus, unterschied sich aber eindeutig von den bis dahin bekannten fünf anderen humanen Herpesviren. Anfangs wurde das Virus wie das Epstein-Barr-Virus (EBV) für B-lymphotrop gehalten und daher zunächst HBLV (humanes B-lymphotropes Virus) genannt, es erwies sich dann aber als vorwiegend T-lymphotrop. 1988 wurde das gleiche Virus aus Lymphozyten-Kulturen von Kindern isoliert, die an **Exanthema subitum** (Roseola infantum, „Dreitagefieber") erkrankt waren und im Verlauf der Erkrankung Antikörper gegen HHV-6 entwickelten („Serokonversion"). Damit war HHV-6 eindeutig als das kausale Agens des Exanthema subitum charakterisiert.
Aufgrund von Unterschieden beim Zelltropismus, bei der Reaktivität mit monoklonalen Antikörpern und bei der Analyse der Virus-DNA mit Restriktionsenzymen ließen sich die HHV-6-Stämme zwei verschiedenen Varianten (A und B) zuordnen. Die beim Exanthema subitum isolierten Virusstämme gehören ganz überwiegend zur Variante B, die von immuninkompetenten Erwachsenen hergeleiteten vorwiegend zur Variante A. 1990 wurde aus der Kultur von $CD4^+$-Lymphozyten eines gesunden jungen Mannes ein Virus isoliert, das mit HHV-6 zwar verwandt, aber doch als eigenständige Spezies (**HHV-7**) davon abzugrenzen war. Obwohl HHV-7 in Einzelfällen Exanthema subitum ausgelöst haben soll und vorübergehend als Erreger der Pityriasis rosea diskutiert wurde, kann der HHV-7-Infektion bisher kein spezifisches Krankheitsbild zugeordnet werden.

Eigenschaften

Die Anzüchtung von **HHV-6** gelingt in der Fieberphase des Exanthema subitum regelmäßig, wenn die Patienten-Lymphozyten nach Stimulierung mit Phythämagglutinin in Gegenwart

6

Lebensjahren beobachtet (Abb. 6.10). Infektionsquelle ist offenbar der Speichel der persistent Infizierten. Nach einer Inkubationszeit von 7–17 Tagen kommt es aus voller Gesundheit zu einem plötzlichen Fieberanstieg bis zu 40–41 °C, nicht selten begleitet von Fieberkrämpfen. Mit der Entfieberung, die meist nach 3 Tagen eintritt, bricht ein fleckenförmiges Exanthem aus, das sehr flüchtig ist und nach 1–2 Tagen abblaßt. Nicht alle Infektionen verlaufen apparent. Seltene Komplikationen sind Pneumonie, Hepatitis und Enzephalitis. Die seltene Primärinfektion des Erwachsenen verläuft Mononukleose-artig.
Beim Übergang in die Persistenz wird die produktive Infektion der T-Lymphozyten – möglicherweise durch deren reichliche IFN-α-Produktion – in eine reaktivierbare latente Infektion umgewandelt. Persistierende HHV-6 DNA kann bei bis zu 88% der Erwachsenen in den Speicheldrüsen nachgewiesen werden. Im Speichel ist auch infektiöses HHV-6 auffindbar. Die produktive Infektion der Speicheldrüsen entgeht entweder der kompletten Elimination durch die zellvermittelte Immunität oder wird von latent infizierten Lymphozyten über Reaktivierung kontinuierlich erneuert. Im ZNS bleiben infizierte Neurone und Gliazellen zurück, bei der **Multiplen Sklerose** (MS) findet man in Assoziation mit den charakteristischen Plaques infizierte Oligodendrocyten. Da außerdem im Liquor von MS-Patienten HHV-6 DNA nachgewiesen wurde, wird eine Beteiligung des HHV-6 an der Pathogenese der MS diskutiert. Die ursprünglich vermutete Beziehung zum Fatigue-Syndrom hat sich als nicht haltbar erwiesen.
Grundlage für die **Reaktivierung** der Infektion ist die Immuninkompetenz. *In vitro* ist für die Reaktivierung der latenten HHV-6-Infektion der Lymphozyten dreierlei erforderlich:

- Stimulation der Zellen mit Phythämagglutinin oder mit AK gegen CD3
- eine „mixed lymphocyte culture" von zwei verschiedenen Individuen
- aktiv mit HHV-7 infizierte Lymphozyten.

In vivo sind diese Voraussetzungen vor allem bei **Allotransplantationen** gegeben, in deren Folge HHV-6 in 30–40% der Fälle reaktiviert wird. Bei der Nierentransplantation sind HHV-6-Reaktivierungen mit der Transplantat-Abstoßung assoziiert, bei Knochenmarktransplantierten mit Pneumonie. Daneben kommen HHV-6-Reaktivierungen bei verschiedenen lymphoproliferativen Erkrankungen vor. Auch für die Retinitis der AIDS-Kranken kann HHV-6 verantwortlich sein.
Die Infektion mit **HHV-7** erfolgt ebenfalls in den ersten drei Lebensjahren, bleibt aber wohl **asymptomatisch**. Die zurückbleibende persistierende Infektion ist jedoch auf einen höheren Aktivitätsgrad eingestellt als beim HHV-6. Obwohl die DNA von beiden Viren in den **Speicheldrüsen** gleich häufig vorkommt, gelingt die Isolierung von infektiösem Virus aus dem Speichel beim HHV-7 viel häufiger, und auch mittels PCR wird im Speichel häufiger HHV-7-DNA als HHV-6-DNA nachgewiesen. Zudem ist für die Reaktivierung von latentem HHV-7 in T-Lymphozyten keine „mixed lymphocyte culture" erforderlich. Wenn reaktiviertes HHV-7 allerdings



Abb. 6.10 Prävalenz des HHV-6 bei 199 Kindern von 0–4 Jahren, gemessen mit Hilfe der indirekten IF gegenüber den HHV-6-Stämmen „U 1102" (Variante A), isoliert

eine Reaktivierung von HHV-6 ausgelöst hat, wird es von dem sich schneller und reichlicher vermehrenden HHV-6 überwuchert. Nach Allotransplantationen wird HHV-7 in 40–50% der Fälle ohne bekannte pathogenetische Folgen reaktiviert.

Laboratoriumsdiagnose

Die Diagnostik wird aus folgenden Gründen erschwert:

- Es muss zwischen zwei nahe verwandten Viren, von denen nur eines als pathogen bekannt ist, differenziert werden.
- Beide Viren persistieren mit hoher Prävalenz von Kindheit an in Blutzellen.
- Beide weisen Antigengemeinschaft mit CMV auf.

Die Isolierung und Identifizierung von HHV-6 aus der Lymphozyten-Kultur eines hochfiebernden Kindes ist zwar eine beweiskräftige Methode, um ein Exanthema subitum zu diagnostizieren, ist aber sehr aufwendig und kommt mit ihrem Ergebnis zu spät. Die PCR zum Nachweis der HHV-6-DNA in Serum/Plasma und insbesondere in Lymphozyten ist auch bei Gesunden gelegentlich positiv, so daß nicht sicher zwischen einer akuten oder persistierenden Infektion unterschieden werden kann. Um bei einer reaktivierten HHV-6-Infektion die Kausalität im erkrankten Gewebe nachzuweisen, ist der Antigen- oder DNA-Nachweis in den betroffenen Zellen erforderlich. Nach Allotransplantation kann die Reaktivierung von HHV-6 und HHV-7 mit (semi)quantitativen PCR-Methoden registriert werden.

Die serologischen Untersuchungen werden meist mit der IF durchgeführt. Dabei ist die Sensitivität des Tests vom verwendeten Virusstamm abhängig (Abb. 6.10). Mit einem zeitgerecht entnommenen Serumpaar (Erstserum: während der Fieberphase, Zweitserum: > 7 Tage nach Fieberbeginn) kann beim Exanthema subitum die HHV-6-Serokonversion festgestellt werden. Wenn das erste Serum fehlt, hilft der Nachweis von IgM-Antikörpern und/oder von IgG-Antikörpern mit geringer Avidität weiter. Vorgetäuschte HHV-6-Serokonversion durch kreuzreagierende HHV-7-Antikörper ist dabei nicht auszuschließen. Eine genaue Differenzierung ist erst im Immunoblot über ein HHV-6-spezifisches Protein („p100“) möglich. HHV-6- und HHV-7-Titeranstiege und -IgM-Antikörper können Zeichen einer Virus-Reaktivierung sein. Oft kommen sie gemeinsam mit den serologischen Parametern einer CMV-Primärinfektion vor. Der naheliegende Verdacht, daß kreuzreagierende Antikörper dafür verantwortlich seien, konnte in solchen Fällen durch Absorptionsexperimente ausgeschlossen werden. Jedoch könnte sich die Kreuzreaktion nach dem Prinzip des „original antigenic sin“ (vgl. 6.4.2: VZV, Serologie) auch bei der Stimulation der HHV-6-Memory-Lymphozyten ausgewirkt haben. Die entstehenden HHV-6-Antikörper weisen dennoch – im Gegensatz zu den frischen CMV-Antikörpern – die hohe, nicht mit dem heterologen Antigen absorbierbare Spezifität von seit langem ausdifferenzierten Antikörpern auf.

Therapie und Prophylaxe

Ebenso wie beim CMV sind beim HHV-6 Ganciclovir (Cymeven®) und Foscarnet (Foscavir®) wirksam. Die Möglichkeiten zu einer Expositionsprophylaxe sind gering. Eine aktive oder passive Immunisierung ist nicht bekannt.

Literatur:

Frenkel, N. and E. Roffman: Human Herpesvirus 7. In Fields, B.N., D. M. Knipe, and P. M. Howley (Eds.): Virology. Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, 1996

Lawrence, G.L., M. Chee, M. A. Craxton, U. A. Gompels, R. W. Honess, and B. G. Barrel: Human herpesvirus 6 is closely related to human cytomegalovirus. J. Virol. 64 (1990) 287–299

Levy, J. A.: Three new human herpesviruses (HHV 6, 7, and 8). Lancet 349 (1997) 558–563

Neff, J.: Studien zur Durchseuchung mit dem humanen Herpesvirus-6 (HHV-6) im Kindesalter unter Verwendung der indirekten Immunfluoreszenz mit zwei verschiedenen Virusstämmen. Dissertation, Med. Fakultät Univ. Bonn, 1990

Pellett, P. E. and J. B. Black: Human Herpesvirus 6. In Fields, B.N., D. M. Knipe, and P. M. Howley (Eds.): Virology. Lippincott-Raven, Philadelphia, New York, 1996

6.4.5 Epstein-Barr-Virus-Infektionen: Mononukleose und EBV-assoziierte maligne Erkrankungen

Barbara C. Gärtner,
N. Müller-Lantzsch

Das Epstein-Barr-Virus (EBV) wurde erstmals 1964 von M. A. Epstein, B. G. Achong und

Y. M. Barr in einer Burkitt-Lymphom-Zellkultur elektronenoptisch nachgewiesen. Wenige Jahre später zeigten G. Henle, W. Henle und V. Diehl, daß das EBV das ätiologische Agens der infektiösen Mononukleose (Pfeiffersches Drüsenfieber) ist. Weitere intensive Forschungsarbeiten zur Biologie und Molekularbiologie des EBV erwiesen, daß dieses Virus auch mit einigen anderen Tumorerkrankungen assoziiert ist und bei deren Entstehung die Rolle eines Kofaktors spielt.

Eigenschaften

Seine Morphologie weist das EBV als typischen Vertreter der Herpesviren aus. Das Viruspartikel hat einen Durchmesser von 150–180 nm und besteht aus Core, Kapsid, Tegument und Lipoproteinhülle (envelope). Ferner zeigen sowohl der Aufbau des EBV-Genoms als auch einige viruskodierte Proteine die Verwandtschaft mit anderen Herpesviren.
Systematisch wird EBV als Humanes Herpesvirus 4 bezeichnet. Man ordnet es aufgrund seines Zelltropismus für Lymphozyten in die Untergruppe der γ-Herpesviren ein, ebenso wie seinen nächsten humanpathogenen Verwandten, das Humane Herpesvirus 8 (**HHV-8**).
Die 172–180 kBp große, doppelsträngige EBV-DNA liegt im Viruspartikel linear, im Kern der infizierten Zelle ringförmig geschlossen, als Episom extrachromosomal vor. Obwohl sich die Genome verschiedener EBV-Stämme durch Deletionen und Variationen unterscheiden, kann die EBV-DNA durch folgende Grundstruktur beschrieben werden (Abb. 6.11): Fünf singuläre Bereiche (U1–U5; „unique regions") sind durch vier interne repetitive (IR1–IR4; „internal repeats") sowie endständige repetitive (TR; „terminal repeats") Sequenzen getrennt. Es werden je nach Zellart zwischen einer und ca. 200 viralen Genomkopien pro Zelle gefunden. Eine Integration von EBV in die zelluläre DNA ist nur in wenigen Fällen beschrieben worden.

Epstein-Barr-Virus-Antigene
Das EBV kodiert aufgrund seines großen Genoms mehr als 100 Proteine. Diese Proteine wurden zu Antigenkomplexen zusammengefaßt (Tab. 6.4), die jeweils mehrere Proteine umfassen: VCA (Virus-Kapsid-Antigene), EA (Early Antigene), EBNA (Epstein-Barr-Virus spezifische nukleäre Antigene) und LMP (Latente Membran-Proteine). Der EBNA-Antigenkomplex besteht bspw. seinerseits aus den phosphorylierten Kernproteinen EBNA1, EBNA2, EBNA3A, B, C, EBNA-LP; der LMP-Komplex aus den latenten Membranproteinen LMP1, LMP2a und 2b. Nur noch von historischer Bedeutung ist der LYDMA-Antigenkomplex („Lymphocyte-determined-membrane-antigen"), der nicht hinsichtlich seiner Funktion für das Virus definiert ist, sondern über die Reaktion des Immunsystems. So werden als LYDMA die Strukturen bezeichnet, gegen welche die zytotoxische T-Zell-Immunabwehr gerichtet ist. Er ist daher für die Immuntherapie (adoptiver T-Zell-Transfer) oder die Entwicklung von Impfstoffen von Bedeutung.

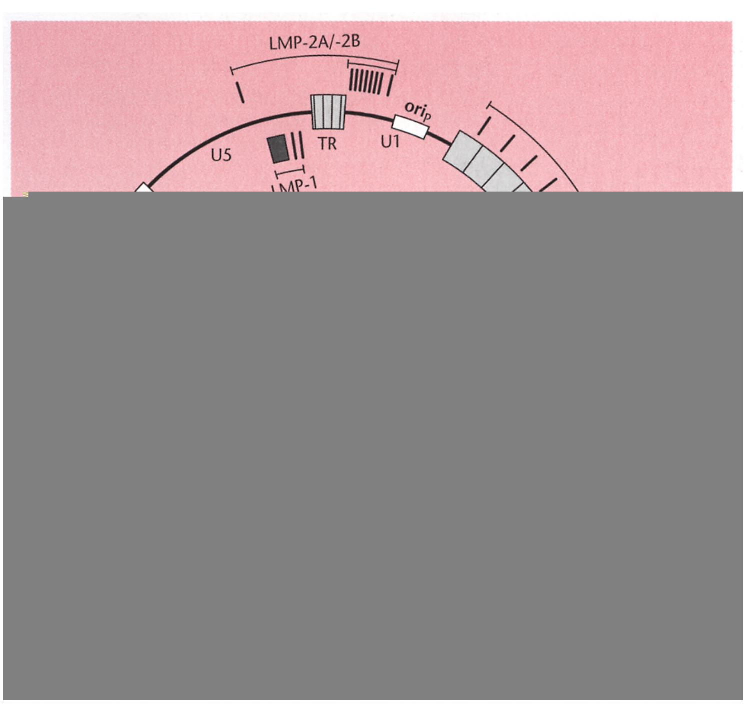


Abb. 6.11 Schematische Darstellung des episomalen EBV-Genoms.
Die singulären Genombereiche (U1–5) und die repetitiven Sequenzen (IR1–4 und TR, graue Rechtecke) sind bezeichnet. Die schwarzen Rechtecke zeigen Regionen viruskodierter Proteine an (vgl. Text). Mit ori_P und ori_{Lyt} sind die Anfangspunkte der latenten bzw. der lytischen Replikation beschrieben.

Tab. 6.4 Wichtige Antigenkomplexe des Epstein-Barr Virus

Infektions-zyklus	Antigen-komplex		zelluläre Lokalisation	Funktion
latent	EBNA 1	EBV nukleäres Antigen	Nukleus	Aufrechterhaltung der Latenz, Anstoß der episomalen DNA-Replikation
	EBNA 2	EBV nukleäres Antigen 2	Nukleus	Transaktivator, Onkogen
	EBNA 3a	EBV nukleäres Antigen 3a	Nukleus	
	EBNA 3b	EBV nukleäres Antigen 3b	Nukleus	
	EBNA 3c	EBV nukleäres Antigen 3c	Nukleus	potentielles Onkogen
	EBNA-LP	EBNA-Leader Protein	Zytoplasma, Membran	Onkogen
	LMP 1	Latentes Membran-Antigen 1	Membran	Onkogen, Trans-aktivator
	LMP 2a	Latentes Membran-Antigen 2a	Membran	
	LMP 2b	Latentes Membran-Antigen 2b	Membran, Zytoplasma	
lytisch	MA	Membran-Antigen	Membran	Hüllprotein, virales Attachment

zyten und Virusreplikation im Oropharynx keine Seltenheit. So scheiden etwa 20–30% aller EBV-infizierten, gesunden Normalpersonen Virus im Speichel aus und bilden damit ein Reservoir für Neuinfektionen.

Klinik

Die **Inkubationszeit** der EBV-Infektion beträgt ca. 30–50 Tage. Die **klinische Ausprägung** der Primärinfektion ist vom Lebensalter abhängig. Sie verläuft im Kleinkindesalter meist asymptomatisch, während sie im Erwachsenenalter mit schwerem Krankheitsgefühl und komplizierten Verläufen einhergehen kann.

Die infektiöse Mononukleose ist charakterisiert durch Fieberschübe, Lymphknotenschwellung, Hepatitis und eine Splenomegalie, die bis zur spontanen Milzruptur führen kann.

Seltenere Komplikationen sind Thrombozytopenien und Anämien, Pneumonien, Myo- und Perikarditiden sowie neurologische Komplikationen. Geradezu klassisch ist ein **Arzneimittelexanthem,** das bei Antibiotikagabe in ca. 70–80% der Fälle bei frischen EBV Infektionen auftritt. Im Blutbild werden vermehrt mononukleäre Zellen nachgewiesen (s.o.). Neben dem klassischen Krankheitsverlauf kann es zu atypischen und chronischen EBV-Infektionen mit lang anhaltenden klinischen Symptomen kommen.

Replikation am Zungenrand oder der Mundschleimhaut verursacht wird.

EBV assoziierte Tumore

EBV ist mit menschlichen Tumorerkrankungen assoziiert, insbesondere mit dem BURKITT-Lymphom, dem Nasopharynx-Karzinom und B-Zell-Lymphomen.

BURKITT-Lymphom: Das BURKITT-Lymphom ist ein malignes B-Zell-Lymphom, das sich bevorzugt bei Kindern primär im Hals-Nasen-Rachenraum, aber auch abdominal manifestiert.

Es kommt weltweit in zwei Formen vor: Die **endemische Form** findet sich vor allem in Afrika mit einer hohen Inzidenz von 10 pro 100000 Kinder. Sie tritt gehäuft in Gebieten auf, in denen die Malaria holoendemisch vorkommt. Bei dieser Form kann EBV in ca. 95% aller Fälle in der Tumorzelle nachgewiesen werden. Bei der in der westlichen Welt vorkommenden **sporadischen Form** findet sich diese Assoziation mit EBV nur bei einer signifikanten Minorität dieser Fälle (8–17%). Allen BURKITT-Lymphomen gemeinsam ist eine charakteristische Chromosomen-Translokation zwischen Chromosom 8 (c-myc Protoonkogen) und den Chromosomen 14, bzw 2 oder 22.

Nasopharynx-Karzinom: Das Nasopharynx-Karzinom (SCHMINCKEsches Lymphoepitheliom) ist ein in Europa selten, in Südostasien häufig auftretender maligner Tumor der Nasen- Rachenschleimhaut.

In Südchina ist es die bei Männern häufigste Krebserkrankung (10 pro 100.000 pro Jahr). Die Assoziation mit EBV beträgt 100%. Da bei Auswanderern aus diesen Gebieten die Tumorhäufigkeit in den folgenden

Laboratoriumsdiagnose

Der Nachweis des Virus kann aus dem Speichel durch Kultivierung mit Nabelschnurlymphozyten erfolgen, eine in der Praxis allerdings selten durchgeführte Methode. Als Virusdirektnachweise aus Biopsiematerial oder Leukozyten sind molekularbiologische Verfahren (Southern Blot, in situ-Hybridisierungen, PCR) etabliert.

Eine EBV-Infektion wird routinemäßig nur serologisch nachgewiesen.

Der Nachweis von Antikörpern gegen verschiedene Virus-Antigengruppen ermöglicht die Differenzierung von frischen, alten und reaktivierten Infektionen. Serologisch lassen sich aber auch Hinweise auf EBV-assoziierte Tumoren gewinnen. Der Nachweis heterophiler Antikörper (PAUL-BUNNELL-Test) ist ein Pathogenitätsmarker, der aufgrund schlechter Sensitivität vor allem im Kindesalter an Bedeutung verloren hat. Als Goldstandard der serologischen EBV-Diagnostik gilt noch immer die Immunfluoreszenz, aber auch ELISA Teste und Western Blots finden Verwendung.
Eine Zusammenfassung der humoralen Immunantwort ist in Abb. 6.12 dargestellt und im folgenden kurz beschrieben: Während der Primärinfektion treten mit Beginn der Erkrankung IgG- und IgM-Antikörper gegen den VCA-Komplex auf. Parallel dazu können im Regelfall IgA-Antikörper gegen VCA nachgewiesen werden. Zeitlich verzögert treten EA-Antikörper auf, die dann wie die VCA-IgM- und IgA-Antikörper im Verlauf der Infektion wieder unter die Nachweisgrenze absinken. Ebenfalls relativ früh können Antikörper gegen EBNA2 bestimmt werden. Später, nach einigen Wochen bis Monaten, treten EBNA1-Antikörper auf und persistieren längerfristig. Bei frischen Primärinfektionen sind gelegentlich keine IgM-Antikörper, sondern nur IgG-Antikörper nachweisbar. In diesen Fällen hilft die Bestimmung von EBNA1-Antikörpern, die bei der akuten Infektion fehlen, zur Abgrenzung.
Bei atypischen oder chronischen Verlaufsformen bzw. bei EBV-Reaktivierungen oder dem Vorliegen von EBV-assoziierten Tumoren kommt es zu Titeranstiegen aller genannter Antikörper. Hervorzuheben ist, daß bei Immunsuppression häufig eine Abnahme oder ein Verschwinden der EBNA1-Antikörper, aber ein Persistieren oder eine Zunahme von EBNA2-Antikörpern beobachtet wird. Weiterhin ist zu erwähnen, daß bei EBV-assoziierten Tumoren, wie z.B. dem Nasopharynx-Karzinom, die Titerhöhe der VCA-IgA-Antikörper in etwa die Rolle eines Tumormarkers spielt. VCA-IgA Antikörper finden sich aber auch beim Gesunden. Am sinnvollsten zum Nachweis einer EBV-Virusreplikation ist die Verlaufsbeobachtung mittels einer quantitativen EBV-PCR, dies jedoch nur bei schwierigen diagnostischen Fragestellungen.

Therapie und Prophylaxe

Die Behandlung der infektiösen Mononukleose ist symptomatisch.

Antivirale Substanzen wie z.B. Aciclovir, Ganciclovir, Cidofovir oder Foscarnet sind in vitro effektiv und verkürzen in vivo auch die Dauer der Virusausscheidung, nicht aber die der klinischen Symptome. Dies erklärt sich durch die Pathogenese der EBV-Infektionen: Eine Vielzahl von Symptomen ist immunpathologisch bedingt, nicht aber aufgrund zytopathischer Effekte bei der EBV-Virusreplikation (s. Pathogenese). Da alle genannten antiviralen Substanzen nur die Virusreplikation inhibieren, haben sie keinerlei Einfluß auf die latente Infektion und eliminieren deshalb das Virus nicht.
Bei **Immunsupprimierten** mit EBV-assoziierten Lymphomen kann versucht werden, über eine Verbesserung des Immunstatus eine Regression der Lymphome zu erreichen. Dies ist durch Reduktion der medikamentösen Immunsuppression bei Transplantierten, durch eine antiretrovirale Therapie bei HIV-Infizierten und durch Knochenmarktransplantation bei angeborenen Immundefekten (z.B. DUNCAN-Syndrom) möglich. Unter den neueren therapeutischen Ansätzen wird z.B. bei Transplantierten der adoptive Immuntransfer versucht (s.u.).

Dabei werden dem Spender gegen EBV reaktive T-Zellen entnommen, ex vivo vermehrt und dem Patienten zurückgegeben.
Eine Immunprophylaxe, von der auch eine mögliche Prävention der Tumoren beim Immungesunden erwartet wird, ist bisher nicht möglich. Alle Anstrengungen zur Herstellung eines Impfstoffes konzentrieren sich auf eine Subunit-Vakzine (VCA-Protein). Ihre Effektivität und Sicherheit gilt es zu überprüfen.

Epidemiologie

Das Epstein-Barr-Virus ist weltweit verbreitet. Wie bei anderen Herpesviren auch, beeinflussen

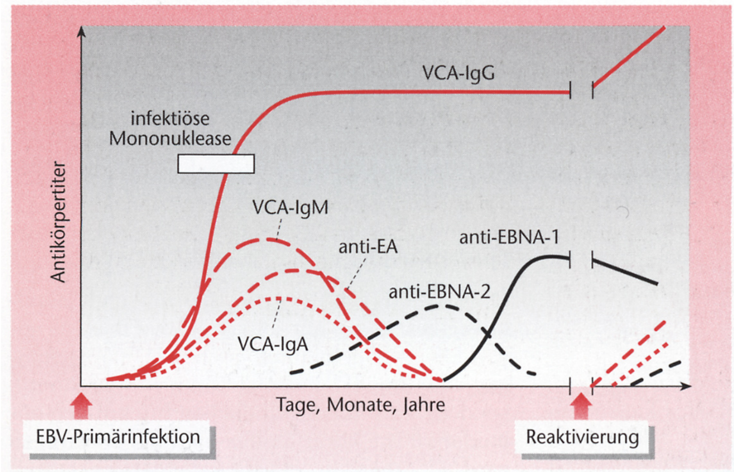


Abb. 6.12 Titerverläufe der Antikörper gegen die wichtigsten viralen Antikörperkomplexe nach Primärinfektion und Reaktivierung (nach NEUMANN-HAEFELIN), modifiziert.

die sozialen und hygienischen Bedingungen den Zeitpunkt der Primärinfektion im Leben eines Menschen. So sind in afrikanischen Ländern mehr als 95% aller Individuen im Alter von einem Jahr mit dem EBV infiziert, während eine so hohe Durchseuchung in Nordamerika und Mitteleuropa erst im mittleren Erwachsenenalter erreicht wird. **Die Übertragung findet hauptsächlich über Speichel statt.** Zielzellen und Reservoir für EBV sind Epithelzellen des Rachens und Zungenrandes und B-Lymphozyten. EBV konnte auch in Zervixsekreten nachgewiesen werden, jedoch gibt es bisher keinen Anhalt für einen venerischen Übertragungsmodus. Auch parenterale Übertragungen im Zusammenhang mit Transplantationen und Bluttransfusionen sind beobachtet worden.

Literatur

RICKINSON, A. B. and E. KIEFF: Epstein-Barr Virus. In: FIELDS Virology .(Eds. FIELDS, B, D. M. KNIPE, and P. M. Howley). Lippincott-Raven Publ.Philadelphia, PA (1995)

SCHOOLEY, R.: Epstein-Barr Virus (Infectious Mono-

Sarkom wurden zunächst zwei Varianten unterschieden: die mediterrane Form, die ganz überwiegend ältere Männer befällt, und die endemische afrikanische Variante, die in allen Altersgruppen, auch bei Kindern, vorkommt und wahrscheinlich mit Malaria-bedingter Immundefizienz zusammenhängt. Mit den ersten AIDS-Patienten lernte man die dritte Variante bei jungen HIV-infizierten homosexuellen Männern kennen und schenkte danach auch den sporadischen, bei immunsupprimierten Transplantatempfängern beobachteten Fällen größere Aufmerksamkeit. Der Tumor kann sich auf der Haut und Schleimhaut, in Lymphknoten und – vor allem nach Dissemination – viszeral entwickeln. Er besteht aus Spindelzellen und ist extrem stark vaskularisiert.

Bei der Anwendung der „representational difference analysis", (d.i. Auffinden und Identifizieren von zusätzlichen Sequenzen beim Vergleich der DNA von Tumorgewebe mit normalem Gewebe), wurde 1994 beim Kaposi-Sarkom das Genom eines γ-Herpesvirus entdeckt, das Verwandtschaft zum EBV als einem γ_1-Herpesvirus zeigte, vor allem aber zum Herpesvirus saimiri (HVS), einem γ_2-Herpesvirus, das in bestimm-

6

sociated rhadinovirus human herpesvirus 8: Determinants of its pathogenicity? J. Virol. 71 (1997) 4187–4192

THOME, M., et al.: Virus FLICE-inhibitory proteins (FLIPs) prevent apoptosis induced by death receptors. Nature 386 (1997) 517–521

6.5 Pockenviren

HANS R. GELDERBLOM

Poxviridae (pox: alt-englisch pocc = Pustel), weltweit verbreitet bei vielen Wirbeltieren und Insekten, enthalten ein Doppelstrang-DNA-Genom von 130 bis 300 kbp, das je nach Genus für 150 bis 300 Proteine kodiert, von denen etwa 100 im Virion nachweisbar sind: neben Strukturproteinen finden sich viruskodierte Enzyme für die frühe mRNA-Synthese und Zytokin-ähnliche Proteine, essentiell für die Virusreplikation oder die komplexe Virus-Wirts-Wechselwirkung. Pockenviren replizieren im Zytoplasma; sie sind quaderförmig oder mehr ovoid, messen 170 bis 200 x 200 bis 350 nm und sind damit schon im Lichtmikroskop sichtbar. Taxonomisch werden zwei Subfamilien unterschieden: die Chordopox- und die Entomopoxvirinae; Wirbeltier- und Insekten-spezifische Viren. Die Vertebraten-Pockenviren bilden nach genetischer Verwandtschaft und serologischen Kriterien 8 Genera (Tab. 6.5).

Das Variolavirus verursachte über Jahrtausende die heute „im Feld" ausgerotteten Pocken, die – wenn auch aus dem öffentlichen Bewußtsein geschwunden – immer noch als einer der vier apokalyptischen Reiter im Gedächtnis der Völker verankert sind (alt-deutsch: Blattern). Im 6. Jahrhundert aus Asien nach Europa und von dort im 16. Jahrhundert nach Amerika eingeschleppt, verursachte das Virus beim Einbruch in eine nicht-immune Bevölkerung Epidemien mit hoher Mortalität. Den Seuchenzügen folgten lange Endemie-Phasen, in denen die Pocken trotz lokal hoher Durchseuchung als Kinderkrankheit weiter einen hohen Zoll forderten. Schutz nach häufig milder Erkrankung ergab die Variolation, das Inokulieren von Vesikelflüssigkeit oder das in Indien geübte Schnupfen von zerriebenem Pustelschorf Pockenkranker. Da 1 bis 2% der Inokulierten verstarben, konnte sich die Variolation jedoch nicht durchsetzen. Erst die Einführung der 1796 von EDWARD JENNER experimentell erprobten Vakzinierung mit Kuhpockenlymphe (vacca, lat. = Kuh) und später mit dem antigenverwandten, in

Tab. 6.5 Pockenviren der Vertebraten nach FENNER (1996) und VAN REGENMORTEL et al. (2000)

Genus	Mitglieder und Wirt	Eigenschaften
Orthopoxvirus	Variola, Vaccinia, Ektromelie (Maus) Affenpocken (Squirrel), Kuhpocken (Nager) Kamelpocken, Büffelpocken	quaderförmig, DNA = 200 kbp enger Wirtsbereich bei Variola und Vacciniavirus; Zoonosen
Parapoxvirus	Orf (Schaf, Ziege), Ekthyma contagiosum Pseudo-Kuhpocken, Hirsch-, Seehund-Pocken	ovoid, DNA = 140 kbp überwiegend Huftiere, Zoonosen
Avipoxvirus	spezifisch bei Hühnern, Kanarien Pinguin, Sperling, Taube Truthahn-, Wachtel-Pocken	quaderförmig, DNA = 260 kbp Übertragung durch Insekten; rekombinante Avipox-Impfstoffe
Capripoxvirus	Ziegenpocken Schafpocken	quaderförmig, DNA = 150 kbp Übertragung durch Insekten

seiner Herkunft aber ungewissen Vacciniavirus ergab einen belastbaren und damals (!) in seinen Nebenwirkungen vertretbaren Schutz. Mit Beginn des 19. Jahrhunderts verbreiteten ärztliche Impfvereine und Landesimpfanstalten die Vakzinierung gegen starke „ideologische" Widerstände. Die 1874 über ein Reichsgesetz verankerte Impfpflicht führte in den 30er Jahren zum Verlöschen der endemischen Pocken in Mitteleuropa und den USA. „Importe" aus Endemiegebieten ergaben jedoch immer wieder kleinere Ausbrüche, zuletzt 1972 in Hannover. Die gesetzliche Impfpflicht wurde in Deutschland 1976 aufgehoben.
Zwischen 1967 und 1977 wurden von der WHO weltweit Massenimpfungen und intensive Feldarbeit (Suche nach Pockenausbrüchen und ihre schnelle Begrenzung durch Isolierung und Abriegelungsimpfungen) organisiert. Die letzten endemischen Pocken traten 1977 in Somalia bei einem Nicht-Vakzinierten auf; der Erkrankte überlebte. Die Erde wurde 1979 – nach zwei Jahren intensiver Nachsuche – für frei von endemischen Pocken erklärt. Aber noch 1977 und 1978 traten z.T. tödlich endende Laborinfektionen auf. Um das Risiko beim Umgang mit dem Variolavirus zu mindern, haben – bis auf die zwei WHO-Referenzlaboratorien in Atlanta und Koltsovo – alle anderen ihre Virusvorräte vernichtet: Die WHO will auch diese letzten Bestände nach mehrfachem Aufschub zum Ende 2002 vernichtet wissen.
Erleichtert wurde die Pocken-Eradikation durch mehrere Umstände:
1) außerhalb des Menschen gab es kein tierisches Reservoir für das Virus
2) die Erkrankung wurde klinisch leicht diagnostiziert und hatte eine relativ lange Inkubationsphase
3) erst mit den klinischen Erscheinungen wurde der Mensch infektiös; die Pocken hinterließen langdauernde Immunität – es gab keine Reinfektionen, praktisch keine subklinischen Verläufe und keine latenten Virusträger
4) das Virus ist genetisch stabil und
5) nahe verwandt mit dem weniger pathogenen, zur Schutzimpfung herangezogenen Vacciniavirus
6) das Impfvirus ließ sich leicht in großen Mengen tropentauglich stabilisieren und durch einfache Skarifizierung verimpfen, und schließlich war
7) auch der Impferfolg an den typischen Impfnarben leicht überprüfbar.

Aufbau und Biologie der Pockenviren

Pockenviren besitzen einen komplexen, im Ultradünnschnitt erkennbaren Aufbau (Abb. 6.13). Im Inneren reifer Partikeln liegt im **„hantelförmigen" Core** das DNA-Genom zusammen mit den Enzymen für die frühe Genexpression, umgeben von einer inneren Lipidschicht. An seinen konkav geformten Längsseiten trägt das Core **Lateralkörper** mit noch unklarer Funktion. Das Virion wird von einer 30 nm starken, lipidhaltigen Hülle mit mindestens 10 Proteinen und

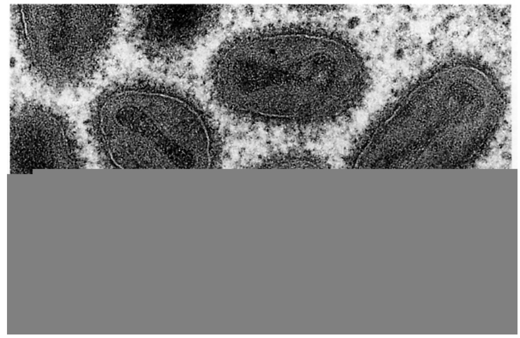


Abb. 6.13 Variolavirus (IMV) im Ultradünnschnitt: Diagnostisches Material. Marker = 100 nm. Endvergr.: 70.000.

charakteristischen Oberflächentubuli begrenzt. Im Umriß unterscheiden sich Ortho- und andere Poxviren von den Parapoxviren: erstere gleichen abgerundeten Quadern und zeigen 50 bis 100 nm kurze, häufig gepaart verlaufende Oberflächentubuli. Parapoxviren dagegen sind mehr ovoid, ihre Tubuli umlaufen das ganze Virion (Abb. 6.14). Wenn die bereits intrazellulär reifen, infektiösen Viren (IMV) durch Budding aus der infizierten Zelle freigesetzt werden, tragen sie (EEV) extrazellulär ein weiteres Envelope mit 4 viruskodierten Proteinen.

Virusreplikation und Assembly

Sowohl IMV wie EEV sind infektiös: sie gelangen durch Fusion mit der Plasmamembran in das Zytoplasma. Schon während des Uncoating – 20 min nach Infektion – beginnt das virale Transkriptionssystem mit der Synthese früher mRNA als Voraussetzung für virale DNA-Replikation, Virus-Zell-Wechselwirkung und die Synthese von *intermediate* und *late* mRNA. Unterstützt durch virale Kinasen, Polymerasen, Helicase, Ligasen beginnt 1 bis 2 h p.i. im Zytoplasma die DNA-Synthese. Pro Zelle werden etwa 10000

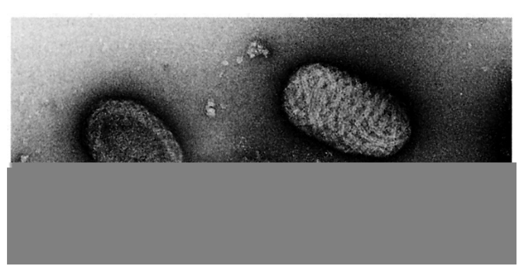


Abb. 6.14 Parapoxvirus nach diagnostischer Negativkontrastierung. Marker = 100 nm. Endvergr.: 70.000.

Genomkopien gebildet – die Hälfte wird schließlich in speziell differenzierten „Virus-Factories" zusammen mit viralem Protein unter komplizierter Membranbiogenese zu IMV verpackt (Abb. 6.15). Aus der Factory wandern die IMV am Zytoskelett zur Plasmamembran, wobei sie an Golgi und Endoplasmatischem Reticulum zusätzliche Hüllen erhalten. Die Freisetzung der EEV erfolgt über Fusion mit der Plasmamembran.

Wirtsbereich der Pockenviren und Pathogenese

Variola major, das ihm nah verwandte Alastrim oder Variola minor-Virus und das Molluscum contagiosum-Virus (MCV) haben allein den Menschen als Wirt. Weitere Pockenviren, die als eine Zoonose auch den Menschen infizieren, finden sich nicht nur unter den Orthopoxviren (Vaccinia, Affen-, Kuh-, Büffel- und Kamelpocken), sondern auch in anderen Subfamilien (s.u. und Tab. 6.5).
Weil frühe virale Proteine den Zell-Stoffwechsel massiv auf die Produktion viraler Genprodukte umsteuern, sind Pockenviren zytopathogen. Klinisch ergaben sich z.T. massive Schäden, bei Knochenmarks-Befall und Megakaryozyten-Untergang auch hämorrhagische Verläufe.
Neben den **direkten** Schäden stehen **indirekte** Effekte: Pockenviren haben evolutionär – durch Rekombination mit dem Wirtszellgenom – Mechanismen zur Umgehung der Körperabwehr erworben **(Virulenzfaktoren)**. So verhindern virale Genprodukte intrazellulär die funktionelle Reifung von Interferon, während andere das freie Interferon inhibieren können. Die für Entzündung und frühe Virusabwehr notwendigen Zytokine IL-1, IL-6 und TNF werden durch freigesetzte Rezeptorproteine abgefangen oder schon intrazellulär durch ein virales Protein mit Serin-Protease-Inhibitor-Eigenschaften blockiert. Poxvirus-kodierte Komplement-bindende Proteine verhindern schließlich auch die Aktivierung der Komplement-Kaskade.
Andererseits können diese Viren durch EGF-ähnliche Faktoren auch das Zell-Wachstum stimulieren: Vacciniavirus führt auf der Chorioallantoismembran (CAM) des bebrüteten Hühnereis zur Vermehrung ekto- und entodermaler Zellen, Molluscum contagiosum zeitigt massive Zellvergrößerung, während Tanapoxviren zu derb-knotigen Hyperplasien führen.

Variolavirus

Die Variola major war durch hohe Letalität (5–50%) gekennzeichnet, während weniger als 1% der Alastrim-Erkrankungen tödlich verliefen. Überwiegend als Tröpfcheninfektion führte das Virus zur Primärinfektion im Oropharynx. Von hier aus transportierten infizierte Makrophagen das Virus in die regionalen Lymphknoten und am 4. Tag weiter auf dem Lymph- und Blutwege zu inneren Organen: Milz, Leber und Knochenmark. Die Inkubationsphase dauerte 12 bis 14 Tage – erst dann kam es zur Absiedlung des Virus in der Haut und zu klinischen Erscheinungen. Es trat über 3 bis 5 Tage ein erster, starker Fieberschub auf. Mit seinem Absinken erschien das Exanthem, das sich über ein Masern-ähnliches Initial-Erythem, Papel, Vesikel zur Pustel und Kruste entwickelte. Auch im Oropharynx zeigten sich Läsionen (Tröpfcheninfektion!). Die Pockenbläschen der Haut waren relativ derb, zeigten gleichen Entwicklungsstand und verteilten sich mit ihrer Häufung im Gesicht und an den oberen Gliedmaßen „zentrifugal" – alles im Gegensatz zum Exanthem der hier dif-

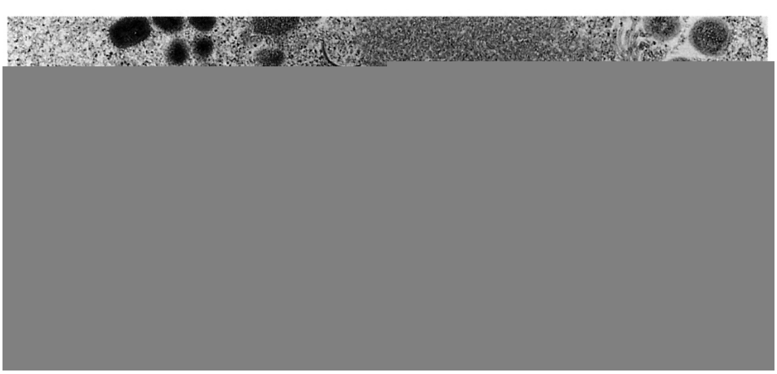


Abb. 6.15 Variolavirus im Ultradünnschnitt mit Virus-Factory: zytoplasmatisch finden sich verschiedene Assembly-Stadien. Marker = 1 µm. Endvergr.: 10.000.

ferential-diagnostisch wichtigen Windpocken (Sternenhimmel). Pockennarben entstanden durch Infektion der besonders im Gesicht häufigen Schweißdrüsen. Zwischen dem 6. bis 8. Tag nach Beginn der Hauterscheinungen kam es häufig zu einem zweiten, kürzeren Fieberschub. Die Prognose der Variola hing vom infizierenden Virusstamm und der immunologischen Ausgangslage ab. Die Lebendimpfung mit dem Vacciniavirus vermittelte sicheren Schutz vor schwerer Erkrankung und Tod – die Pocken verliefen beim Vakzinierten, wenn überhaupt klinisch manifest, wesentlich leichter unter Ausbildung nur weniger Effloreszenzen.

Immunabwehr
Die spezifische Abwehr richtete sich gegen eine Vielzahl viraler Komponenten und erfolgte zunächst über zytotoxische T-Zellen: Sie vernichteten infizierte, bereits Antigen-tragende Zellen, noch vor der Virus-Freisetzung. Experimente mit einer Serumtherapie ließen auch eine schützende Wirkung spezifischer Antikörper erkennen. Die frühe zelluläre Abwehr war jedoch entscheidend für die effektive Begrenzung der Pockeninfektion – erkennbar am gutartigen Krankheitsverlauf und einer begrenzten Zahl von Hautläsionen. Zelluläre Immundefekte ermöglichten dagegen eine massive Virusvermehrung in Milz, Leber und Knochenmark – hier ergaben sich konfluierende oder gar hämorrhagische Effloreszenzen.

Vacciniavirus
Am 4. bis 5. Tag nach Skarifizierung führte das Vaccinia-Impfvirus beim Immunkompetenten zu einer begrenzten Infektion: die am Impfort entstehende Papel wandelte sich nach 2 bis 3 Tagen zur virushaltigen Vesikel und Pustel um. Am 9. Tag kam es vorübergehend zur Vergrößerung der axillären Lymphknoten und leichtem Fieber, bis dann die Pusteln eintrockneten, verschorften und nach 3 Wochen narbig abheilten. Die zur Vakzinierung eingesetzten Stämme waren durch Nebenwirkungen belastet (nekrotisierende Vaccinia bei Immundefekt; generalisierte Vaccinia oder postvakzinale Enzephalitis mit durchschnittlich 1 Fall unter 100 000 immungesunden Erstimpflingen). Aus den Impfvesikeln heraus konnten sich Impfling und Haushaltskontakte auch gefährliche Schmier-Infektionen zuziehen. Angesichts dieser Nebenwirkungen wurde die allgemeine Impfpflicht in Deutschland schon 1976 aufgehoben. Allein bei Labor-Arbeiten mit rekombinantem Vacciniavirus bleibt die Impfung empfohlen.

Kuhpocken
Eigentlicher Wirt sind Wildmäuse; neben Rindern werden gelegentlich auch Zootiere und Katzen infiziert. Der Mensch erwirbt das Virus durch direkten Kontakt, häufig ergeben sich nur isolierte Läsionen an den Händen. Klinisch werden – gelegentlich mit schwerem Krankheitsgefühl – Lymphangitis und Fieber, aber kein generalisiertes Exanthem beobachtet. Die Kuhpocken ulzerieren, heilen aber sonst beim Immungesunden (!) folgenlos ab.

Affenpocken
Sporadische Ausbrüche dieser Zoonose werden seit den 70er Jahren mit der Ausrottung der Variola major – in Zentralafrika – diagnostiziert: Sie umfassen jeweils hunderte von Erkrankungen, unter ihnen bis zu 80% Sekundärfälle. Die früher hohe Letalität ging von 15 auf 1% zurück. Eigentlicher Virus-Wirt sind Baumhörnchen und/oder Nager. Die Affenpocken zeigen oft schwere, von der Variola major kaum zu unterscheidende Verläufe: Differentialdiagnostisch typisch ist hier die stärker ausgeprägte nuchale Lymphadenopathie. Unklar ist, ob das in den letzten Jahren verstärkte Auftreten der Affenpocken auf der Einstellung der auch hier schützenden Vakzinierung, d.h. auf der Vergrößerung der empfänglichen Population, oder auf anderen Faktoren beruht.

Parapoxviren
Die bei Schaf und Ziege als Orf (Lippengrind) und beim Rind als Pseudo-Kuhpocken verbreiteten Viren finden sich am Euter infizierter Muttertiere, bei Kälbern und Lämmern im Lippenbereich und verursachen durch Schmierinfektion gelegentlich Zoonosen. Orf ergibt beim Menschen eine, selten mehrere, derbknotige, gelegentlich ulzerierenden Läsionen von 3 bis 4 cm Durchmesser (Ecthyma contagiosum) an Händen, selten im Gesicht. Die Pseudo-Kuhpocken induzieren 2 cm große, nicht ulzerierende, indolente Knoten (Melkerknoten, Paravaccinia). Beide Veränderungen heilen nach etwa 8 Wochen spontan ab und bedürfen, sofern nicht überinfiziert, keiner Intervention.

Leporipox
In dieser Gruppe ist das Myxomvirus als Erreger der für das europäische Wildkaninchen tödlichen **Myxomatose** von veterinärmedizinischem Interesse. Das Virus wird erfolgreich zur Reduktion von Kaninchenpopulationen eingesetzt, Infektionen beim Menschen sind nicht beschrieben.

Molluscipox
Das **Molluscum contagiosum-Virus (MCV)** des Menschen ist humanspezifisch, doch sind weitere speziesspezifische MCV beschrieben (s. Tab. 6.5). MCV kann weder in Zellkultur noch

auf der CAM angezüchtet werden. Es wird weltweit durch **Schmierinfektion** (Handtücher, Badeanstalt) oder durch engen Körperkontakt übertragen und induziert ohne klinische Prodromi epitheliale Hyperplasien. Nach einer Inkubationszeit von 2 bis 8 Wochen entwickeln sich die typischen Läsionen (Dellwarze), zunächst als Papel: im Bereich der Stachelzellschicht werden einzelne Zellen zu pathognomonischen, MCV-gefüllten Riesenzellen, die mit der Zellproliferation zur Oberfläche wachsen. Es kommt auch zur Hyperplasie der Basalzellen und bindegewebigen Abgrenzung der Läsion. Die 2 bis 4 mm messenden rundlichen Papeln treten häufig multipel auf, sind wachsfarben, relativ weich, indolent und zeigen in späteren Stadien Nabelbildung: Aus dem Innern kann dann eine weichkäsige Mischung aus degenerierenden Epithelzellen und MCV-haltiger Einschlußmasse ausgedrückt werden. Abgesehen von Fällen bakterieller Überinfektion oder bei kosmetisch oder mechanisch störender Lokalisation erfordern Dellwarzen keine chirurgische Intervention: Sie persistieren über Monate bis zu 3 Jahren, verschwinden aber allgemein spontan.

Yatapox

In Zentralafrika führen Tanapox- und Yaba-Affentumor-Virus als seltene Zoonose (gelegentlich nach schweren Fieber-Prodromi) zur Ausbildung einzelner, selten mehrerer fester, warzenähnlicher Effloreszenzen von 1,5 cm Durchmesser. Die von Ödem und Erythem umgebenen Papeln zeigen später Nabelung und heilen, gewöhnlich nach geschwürigem Zerfall, binnen 5 bis 6 Wochen aus.

Avipox

Geflügelpocken sind für Säuger apathogen, die Infektion verläuft hier nicht produktiv. Ihr Genom enthält eine Reihe nicht-essentieller Gene, die als „Platzhalter" für den Einbau „fremder" DNA, z.B. Rabiesvirus-Glykoprotein kodierender Sequenzen dienen können. So induzieren als **Lebendimpfstoff** genutzte rekombinante Avipoxviren durch heterologe Genexpression bei Mensch und Tier eine belastbare Immunität. Gegenüber den voll replikationsfähigen Vacciniavirus-Rekombinanten bieten Avipoxvirus-Vektoren eine erhöhte biologische Sicherheit.

Laboratoriumsdiagnose von Poxvirus-Infektionen

Klinik und Vorgeschichte sind Grundlage der Verdachtsdiagnose. Schnellen und sicheren Hinweis auf eine Poxvirus-Infektion ermöglicht die **Elektronenmikroskopie (EM)** nach Negativ-Kontrastierung von Vesikel-, Pustel-Inhalt oder MCV-Exprimat durch direkten Erregernachweis (Abb. 6.14), wichtig auch zur Differentialdiagnostik gegenüber Herpesvirus-Infektionen. Auf der CAM zeigen Pockenviren **unterschiedliches Wachstumsverhalten,** sie können so biologisch differenziert werden. Deshalb ist die Virusisolierung obligatorisch. Neben konventioneller Methodik (ELISA, Immundiffusion, IFT, KBR, Neutralisationstest) stehen in Referenzlaboratorien zunehmend auch Antigen- und molekulargenetische Teste (Restriktionsenzymanalyse, PCR) zur Feindifferenzierung bereit.

Therapie

Bei Immungesunden ergeben sich nach der Eradikation der Variola schwere Poxvirusinfektionen nur durch die bisher auf Zentralafrika beschränkten Affenpocken. Hier ist die Gabe von Hyperimmun-Gamma-Globulin sowie eine Chemotherapie mit Cidofovir oder Methisazon-Derivaten angezeigt. Zu beachten ist, daß immungeschwächte Menschen bei Tierkontakten durch verschiedene Zoonosen sehr gefährdet sind.

Literatur

Fenner, F.: Poxviruses. In: Fields Virology, 3rd ed., (Eds. B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley et al., Lippincott – Raven Publ., Philadelphia, New York, 2673–2702 (1996).

Moss, B.: Poxviridae: The viruses and their replication. In: Fundamental Virology. 3rd ed., (Eds.B. Fields, D.M. Knipe, and P.M. Howley), Lippincott – Raven Publ., Philadelphia, New York, 1169–1197 (1996).

Van Regenmortel, M. H. V. et al: Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses; Poxviridae. In: Seventh Report of the ICTV, Academic Press, London – New York, 137–157 (2000).

6.6 Hepadnaviren und Hepatitis D-Virus

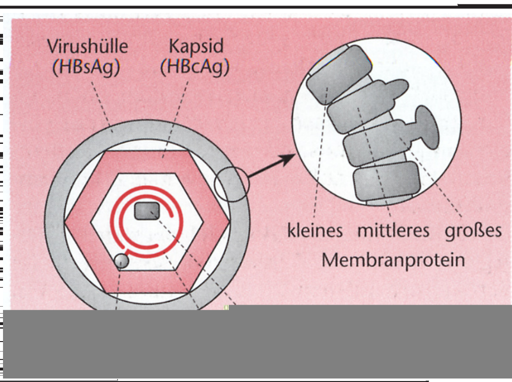
Wolfgang Jilg

Die Familie **Hepadnaviridae (hepa**totrope **DNA**-Viren) umfaßt mehrere Vertreter animaler Viren mit ausgeprägter Wirtsspezifität: das beim Menschen vorkommende **Hepatitis B-Vi-**

rus (HBV) sowie Viren der amerikanischen Waldmurmeltiere (woodchuck hepatitis virus, WHV), der Erdhörnchen (ground squirrel hepatitis virus, GSHV), Peking-Enten (duck hepatitis virus, DHV), Graureiher und Gänse. Bei diesen Erregern handelt es sich um umhüllte Viren mit einem ikosaedrischen Kapsid und partiell doppelsträngiger DNA. Charakteristisch ist ihr ausgeprägter Hepatotropismus, ihre Fähigkeit zu persistierenden Infektionen und ihr Vermehrungszyklus, der ein Zwischenstadium umfaßt, in dem virale RNA mittels einer viralen reversen Transkriptase in DNA überführt wird. Die tierischen Hepatitisinfektionen stellen wichtige Modellsysteme zur Erforschung der menschlichen Hepatitis B dar.

6.6.1 Hepatitis B-Virus (HBV)

Eigenschaften



Proteine bezeichnet). Auf der Prä-S1-Domäne findet sich ein Bereich, der an Leberzellen binden kann und wahrscheinlich für den Infektionsvorgang von Bedeutung ist. Das kleine, nur aus der S-Domäne bestehende Protein macht den Hauptteil der Proteine der Virushülle aus. Von der infizierten Leberzelle wird HBsAg in weit größerer Menge sezerniert, als für die Komplettierung der Viruspartikel notwendig ist; das überschüssige Material wird in Form kleiner sphärischer Partikel („22 nm-Partikel") oder tubulärer Strukturen ins Blut abgegeben. Die Zahl dieser HBs-Ag-Partikel kann die Zahl der Viruspartikel im Blut um den Faktor von 10^4–10^6 übersteigen. Sie finden sich im Serum in Konzentrationen bis zu 10^{13} Partikeln pro ml und lassen sich daher leicht mit immunologischen Methoden (mit Hilfe des HBsAg-Tests, s.u.) nachweisen. Antikörper gegen das kleine Protein (Anti-HBs) sind neutralisierend, d.h. sie können Infektionen mit HBV verhindern. Aus dem Plasma chronischer Virusträger isolierte 22 nm-Partikel bildeten die Grundlage für den ersten, teilweise auch heute noch benutzten Impfstoff gegen Hepatitis B (s.u.).
Das ikosaedrische Viruskapsid ist aus 180 Unterein-

6

Tab. 6.6 Diagnostische Marker einer Hepatitis B-Infektion

Marker	Definition	Bedeutung
HBsAg	Oberflächenprotein	akute oder chronische Hepatitis B-Infektion, frühester Marker

Nukleinsäurehybridisierung und **Nukleinsäure-Amplifikationstechniken** wie die Polymerase-Kettenreaktion oder die Ligase-Kettenreaktion. Direkte Hybridisierungsverfahren besitzen eine Nachweisgrenze von etwa 0,3 pg HBV-DNA/ml und erlauben damit noch den Nachweis von ca. 10^5 Viruspartikeln pro ml, während die Polymerase-Kettenreaktion noch den Nachweis von einigen wenigen Molekülen DNA und damit von einigen wenigen Viruspartikeln ermöglicht. Indikationen für diese allerdings immer noch aufwendige und teure Methode sind die Notwendigkeit, Infektiosität eines Infizierten nachzuweisen oder auszuschließen (etwa bei HBsAg-positiven Angehörigen des medizinischen Personals oder Kleinkindern in Gemeinschaftseinrichtungen), Indikationsstellung und Verlaufskontrolle einer Interferon- bzw. antiviralen Therapie sowie weitere Abklärung serologisch nicht eindeutiger Konstellationen.

Therapie

Eine spezifische Therapie der akuten Hepatitis B ist nicht möglich.

Die klinisch manifeste chronische Infektion kann mit Interferon-α behandelt werden, das dreimal pro Woche über insgesamt 6 Monate subkutan verabreicht wird. Allerdings sprechen nur 30–40% der Patienten auf diese Therapie an; als Alternativen (bzw. Kombinationspartner) bieten sich verschiedene Nukleosidanaloga an. Das zur Therapie der HIV-Infektion benutzte Lamivudin (s. Tab. 5.7) ist zur Behandlung der chronischen Hepatitits B zugelassen. Famciclovir und weitere Nukleosidanaloga (z.B. Adefovir, Lobucavir) werden derzeit in klinischen Studien getestet (Tab. 5.7).

Epidemiologie

Übertragungsweg

Die Hepatitis B wird durch Inokulation von virushaltigem Material oder durch Kontakt solchen Materials mit verletzter Haut oder Schleimhaut übertragen.

Die höchsten Viruskonzentrationen finden sich im Blut und Serum eines akut oder chronisch Infizierten; infektiös sind aber auch alle mit Blut kontaminierten Körperflüssigkeiten. Auch in Samenflüssigkeit, Muttermilch und Speichel konnte HBV nachgewiesen werden, wenn auch in wesentlich niedrigeren Konzentrationen als im Blut.

Vor der Entdeckung des Erregers war die Hepatitis B eine gefürchtete Transfusionsfolge; durch das heute übliche Testen aller Blutkonserven auf HBsAg ist diese Gefahr weitestgehend gebannt. Auch heute noch häufige Übertragungsmöglichkeiten sind die direkte Inokulation des Erregers, etwa im medizinischen Bereich durch kontaminierte Kanülen („Nadelstichverletzung“), Skalpelle oder andere spitze oder scharfe Gegenstände. Mit chronischen Hepatitis B-Virusträgern eng zusammenlebende Menschen können sich über Geräte des alltäglichen Gebrauchs wie Nagelscheren, Nagelfeilen oder Rasierapparate infizieren, sofern diese von Infizierten und Nichtinfizierten gemeinsam benutzt werden. Übertragung einer Hepatitis B durch Akupunktur, Tätowierung oder Piercing infolge inadäquater Sterilisation der dabei benutzten Instrumente ist ebenfalls wiederholt beschrieben worden. Auch Schleimhautkontakt mit infektiösem Material kann zu Infektionen führen, weil Schleimhäute praktisch immer minimale Läsionen aufweisen, die dem Virus den Durchtritt in die Blutbahn erlauben. Darauf beruht die häufige Übertragung des Hepatitis B-Virus durch Sexualkontakt. Schließlich kann die Infektion perinatal, d.h. unmittelbar vor oder während der Geburt von der meist chronisch infizierten Mutter auf das Neugeborene übertragen werden; eine eigentliche intrauterine Infektion kommt allerdings nicht vor.

Meldepflicht besteht für Krankheitsverdacht, Erkrankung sowie Tod an akuter Virushepatitis. Außerdem für den direkten oder indirekten Nachweis von Hepatitis-A-, -B-, -C- (nicht bei chronischer Infektion), -D- und -E-Virus.

Verbreitung

Die Hepatitis B gehört zu den wichtigsten Infektionskrankheiten (Abb. 6.19).

Sie steht weltweit mit etwa einer Million Todesfällen jährlich nach Tuberkulose, Malaria und AIDS an vierter Stelle der infektionsbedingten Todesursachen.

Sie tritt gehäuft in Südostasien, Zentral- und Südafrika auf; in diesen Hochendemieregionen

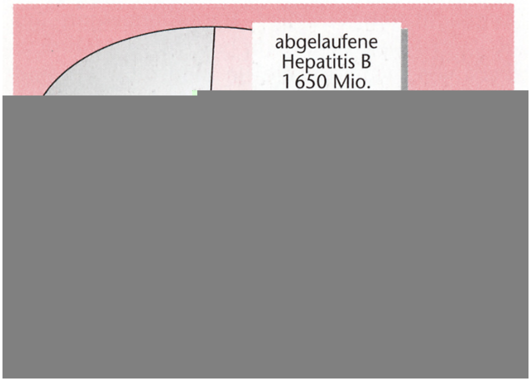


Abb. 6.19 Häufigkeit der Hepatitis B weltweit (WHO 1995).

sind über 10%, in bestimmten Gegenden bis 20% der Einwohner chronische Träger des Hepatitis B-Virus. Eine Virusträgerrate von 2–5% findet sich im Nordafrika, im Nahen Osten, in Indien und Südamerika, aber auch in weiten Gebieten Osteuropas. In den westlichen Industriestaaten sind dagegen weniger als 1% der Bevölkerung chronisch infiziert. Hier gilt die Hepatitis B in erster Linie als Erkrankung von Angehörigen bestimmter Risikogruppen wie medizinischem und zahnmedizinischem Personal, bestimmten Patientengruppen (Hämophile, Dialysepatienten), homosexuellen Männern, Drogenabhängigen und Prostituierten. Die höhere Inzidenz der Hepatitis B in diesen Gruppierungen darf aber nicht darüber hinwegtäuschen, daß sich auch in den Industriestaaten eine wesentlich größere Zahl von Infektionen in der Normalbevölkerung ereignet, hauptsächlich durch sexuelle Übertragung (Abb. 6.20). In Deutschland infizieren sich jährlich etwa 50000 Menschen neu, ca. 500000 sind chronische Virusträger.

Prophylaxe

Hygiene

Akut oder chronisch mit Hepatitis B Infizierte können sehr hohe Viruskonzentrationen im Blut aufweisen (bis 10^8 infektiöse Viren pro ml Serum und mehr), so daß auch nicht mehr sichtbare Spuren von Blut zu einer Übertragung führen können. Im üblichen zwischenmenschlichen Umgang geht von diesen Menschen keine nennenswerte Gefahr für ihre Umgebung aus. Vorsicht ist jedoch geboten bei engem körperlichen Kontakt und bei Kontakt mit deren Blut und Körpersekreten. Mit virushaltigem Material kontaminierte Gegenstände sind zu sterilisieren oder, wenn nicht möglich, sorgfältig zu desinfizieren (mit aldehyd- oder alkoholhaltigen Desinfektionsmitteln). Wegen der oft hohen Infektiosität ist beim Umgang mit Blut, Sekreten oder Gewebe von Hepatitis B-Virusträgern besondere Sorgfalt nötig (Schutzhandschuhe). Das gilt auch für Blutabnahmen und ähnliche Verrichtungen bei diesen Patienten. Diese Tätigkeiten sollten generell mit Schutzhandschuhen ausgeführt werden, da Hepatitis B-Virusträger nicht immer bekannt sind (ca. 1% aller Krankenhauspatienten in Deutschland dürften Virusträger sein) und auch andere Infektionen – in erster Linie HIV- und Hepatitis-C-Infektionen – durch Blut übertragbar sind.

Immunprophylaxe

Zur **passiven Immunisierung** wird spezifisches Hepatitis-B-Immunglobulin (HBIG) verwendet, das Anti-HBs in hohen Konzentrationen enthält. Es wird zur Postexpositionsprophylaxe eingesetzt bei Menschen ohne Immunschutz nach Kontakt mit HBV-haltigem Material (z.B. nach Nadelstichverletzung) sowie bei Neugeborenen HBsAg-positiver Mütter. Wichtig ist die frühzeitige Gabe möglichst innerhalb der ersten Stunden nach Kontakt bzw. Geburt!

Üblicherweise wird die passive Immunisierung mit der aktiven Impfung kombiniert.



Abb. 6.20 Inzidenz der Hepatitis B in verschiedenen Altersgruppen. Die höchste Inzidenz findet sich bei 15-25jährigen; etwa ein Viertel aller Erkrankungen treten in dieser Altersgruppe auf. Die Altersverteilung ist typisch für eine sexuell übertragene Infektion! (in Deutschland gemeldete Fälle 1992-1996; Statistisches Bundesamt).

Zur **aktiven Impfung** gegen Hepatitis B stehen Totimpfstoffe zur Verfügung. Alle enthalten HBsAg, das Oberflächenprotein des Virus. Für die Impfstoffe der ersten Generation – die heute noch in weiten Teilen der Welt eingesetzt werden – wird das HBsAg in Form der nichtinfektiösen 22 nm-Partikel aus Plasma chronischer Virusträger isoliert. In Deutschland werden ausschließlich die Impfstoffe der zweiten Generation verwendet, für die das HBsAg gentechnisch in genetisch veränderten Hefezellen produziert wird. Die Grundimmunisierung erfolgt durch drei Impfstoffgaben zum Zeitpunkt 0, nach 4 Wochen sowie 6–12 Monaten.
Die Impfung ist indiziert für alle Personen, die ein erhöhtes Hepatitis B-Risiko aufweisen (s. Tab. 6.8). Allerdings kann die ausschließliche Impfung nur von Risikogruppen zwar die Hepatitis B-Inzidenz in diesen Gruppierungen senken, die Zahl der in der Gesamtbevölkerung auftretenden Fälle aber kaum verändern. Daher wurde die Hepatitis B-Impfung auch in Deutschland – wie in vielen anderen Ländern der Welt – seit 1996 in den Katalog der Kinder- und Jugendlichenimpfungen mit aufgenommen. Durch die Impfung aller Säuglinge und Kleinkinder bzw. Jugendlichen soll eine vollständige [illegible]

empfiehlt die Ständige Impfkommission am ROBERT-KOCH-Institut für besonders gefährdete Personen, wie z.B. alle im medizinischen und zahnmedizinischen Bereich Tätigen, eine Wiederimpfung nach 10 Jahren. Bei diesen Menschen sollte auch der Impferfolg 4–6 Wochen nach Beendigung der Grundimmunisierung kontrolliert werden; bei schlechtem Ansprechen auf die Impfung (Anti-HBs-Wert unter 100 Internationale Einheiten pro l) ist eine einmalige Wiederimpfung innerhalb eines Jahres zu empfehlen.

6.6.2 Hepatitis D-Virus (Hepatitis Delta-Virus)

Eigenschaften

Der Erreger der Hepatitis D ist ein kleines, sogenanntes „subvirales“ Partikel, das zu Infektion und Vermehrung das Hepatitis B-Virus als Helfervirus benötigt. Auch das woodchuck hepatitis virus (WHV) kann bei der Infektion des Waldmurmeltiers als Helfer fungieren. Das Hepatitis Delta-Virus (HDV) besitzt eine für animale Viren ungewöhnlich kleine RNA von 1,7 kb, die ringförmig geschlossen ist und durch [illegible]

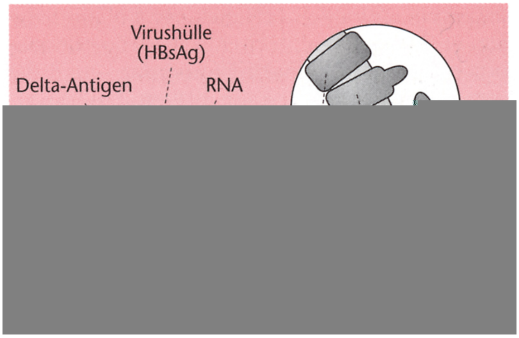


Abb. 6.21 Hepatitis-D-Virus (schematisch). Virushülle: Lipidmembran mit HBsAg; Delta-Antigen: Hepatitis-D-Virus-spezifisches Protein; RNA: zirkuläre, durch intramolekulare Basenpaarung stäbchenförmige RNA.

tion mit dem Hepatitis B-Virus allein unterscheidet. In mehr als 90% aller Fälle werden nach dem akuten Stadium sowohl HBV als auch HDV eliminiert. Klinisch wesentlich bedeutsamer ist die **Superinfektion** eines HBV-Trägers mit HDV. Sie führt oft zu ausgeprägten, nicht selten fulminanten akuten Krankheitsbildern; in 70–90% kommt es zu schweren chronischen Verläufen mit häufigem Übergang in eine Zirrhose. Die Pathogenese der Leberschädigung ist unklar; im Gegensatz zur Hepatitis B-Infektion wird ein direkter zytotoxischer Effekt des HDV diskutiert.

Laboratoriumsdiagnose

Die Diagnose einer HDV-Infektion ist durch den Nachweis spezifischer Antikörper im Serum (Anti-HDV) sowie der HDV-RNA mittels PCR möglich. Bei Koinfektion ist die Antikörperbildung variabel und nicht immer nachweisbar; verläßlicher ist die Untersuchung auf HDV-RNA, die während der akuten Infektion in der Regel positiv ausfällt. Superinfektion führt dagegen im allgemeinen zu einer ausgeprägten Immunantwort mit Bildung von Antikörpern

Hepatitis B-Infektion allein. Eine spezifische Immunprophylaxe der Hepatitis Delta gibt es nicht; da das Hepatitis Delta-Virus sich aber nur in Gegenwart des Hepatitis B-Virus vermehren kann, schützt die Impfung gegen Hepatitis B auch vor einer HDV-Infektion.

Epidemiologie

Weltweit sind etwa 5% aller chronischen HBV-Träger auch mit HDV infiziert, der Prozentsatz an HDV-infizierten HBV-Trägern schwankt regional aber sehr stark. Die Durchseuchung ist in Nord- und Westeuropa und Nordamerika gering und im wesentlichen auf Drogenabhängige und Hämophile beschränkt; in Südeuropa ist die Infektion dagegen wesentlich häufiger. Gebiete mit hoher HDV-Frequenz sind Rumänien, das Mittelmeergebiet, der Mittlere Osten, Zentralasien, Westafrika, das Amazonasbecken und bestimmte Inseln im Südpazifik.

Literatur

BLUM, H. E., K. P. MAIER und W. GEROK. Virushepatitis. In: Hepatologie (Hrsg. GEROK, W. und H. E. BLUM). 2. Aufl., Urban & Schwarzenberg, München 1995, 376–412.

HOLLINGER, B. Hepatitis B virus. In Fields Virology (Eds.: FIELDS B N., D. M. KNIPE, and P. M. HOWLEY). 3rd ed., Lippincott-Raven, Philadelphia 1996, 2739–2807.

JILG, W.: Impfprophylaxe bei viralen Hepatitiden. Z. Gastroenterol. 35 (1997) 585–590.

MAIER, K. P. Hepatitis – Hepatitisfolgen. 5. Aufl., Thieme, Stuttgart 2000.

PURCELL, R. H. and J. L. GERIN: Hepatitis Delta virus. In Fields Virology (Eds.: FIELDS, B. N., D. M. KNIPE, and P. M. HOWLEY). 3rd ed., Lippincott-Raven, Philadelphia 1996, 2819–2829.

ROBINSON, W. S. Hepatitis B virus and hepatitis D virus. In: Mandell, Douglas and Bennett´s principles and practice of infectious diseases (Eds.: MANDELL, G. .L, J. E. BENNET, and R. DOLIN). 5th ed., Churchill Livingstone Inc.,Philadelphia 2000, 1652–1685.

6.7 Picornaviren

stika der Gruppe sind im allgemeinen Teil unter Kap. 5.1.5 und in Tab. 5.3 zusammengefaßt, der Vermehrungszyklus ist unter Kap. 5.1.7 und in Abb. 5.24 beschrieben. Die Picornaviren des

daß drei serologisch verschiedene Poliovirustypen (1–3) existieren. Der entscheidende Durchbruch für die Poliomyelitisforschung – und die gesamte Virologie – kam 1949 mit der Ent-

6

Tab. 6.10 Krankheitsbilder bei Enterovirus-Infektionen des Menschen (nach D.M. Morens, M. A. Pallansch und M. Moore (1991); J. L. Melnick (1996))

Polioviren	Paralyse (in verschiedenen Schweregraden) Enzephalitis aseptische Meningitis Myokarditis uncharakteristische, fieberhafte Erkrankung („Sommergrippe")
Coxsackieviren A	Herpangina akute lymphonoduläre Pharyngitis aseptische Meningitis Enzephalitis Paralyse (Typ 7, 24) Myo- und Perikarditis

Zentralnervensystem (s. Abb. 5.27) ein Teil als aseptische Meningitis, der andere Teil als paralytische Poliomyelitis mit oft intensiven entzündlichen Reaktionen und verschieden starken Schädigungen der Ganglienzellen, die zur Zellnekrose führen können (irreversible Dauerschäden). Es bestehen charakteristische Verteilungsmuster mit Läsionen zumeist in der grauen Substanz (Vorderhörner) des Rückenmarks (poliós = grau; myelós = Rückenmark; s.u.).
Das Intervall zwischen Infektion und dem Einsetzen der ersten Krankheitserscheinungen schwankt erheblich (s.o.). Dies hängt auch damit zusammen, daß bei einem Teil der klinisch manifesten Fälle eine „Vorphase", ein „minor illness" mit Fieber und uncharakteristischen Symptomen zu beobachten ist – Zeichen der Virämie und allgemeinen Ausbreitung des Poliovirus.
Die **paralytische Form** wird nach Verteilung der Lähmungen aufgegliedert. So werden eine *spinale Form* (bis 80% der paralytisch verlaufenden Krankheit), eine *bulbäre*, eine *bulbo-spinale,* eine *ponto-mesenzephale* und eine *enzephalitische Form* beschrieben. Natürlich gibt es auch Mischformen.
Klinisch imponieren schlaffe Paresen, asymmetrisch, in wahlloser Anordnung der Ausfälle. Sehr bedrohlich ist die bulbäre bzw. bulbo-spinale Form der Poliomyelitis mit Paresen in der kaudalen Hirnnervengruppe, wobei schwere vegetative Störungen des Kreislaufs und der Atmung hinzukommen können.
Die sehr seltene enzephalitische Form der Poliomyelitis manifestiert sich mit zerebralen Symptomen wie bei anderen Enzephalitiden: Bewußtseinstrübung, Krampfanfälle, zentrale Lähmungen, Hyperkinesen, vegetative Störungen (Hyperhidrosis) und psychopathologische Veränderungen können das Bild prägen.
Nach Überstehen der akuten Erkrankung folgt die Reparationsphase mit leichten oder auch dramatischen Besserungen, die mit *reversiblen* Schädigungen der motorischen Ganglienzellen durch entzündliche Prozesse in Verbindung gebracht werden.
Im endgültigen Defektstadium kann es zu Deformierungen der Extremitäten und der Wirbelsäule und zu trophischen Störungen kommen.

Laboratoriumsdiagnose

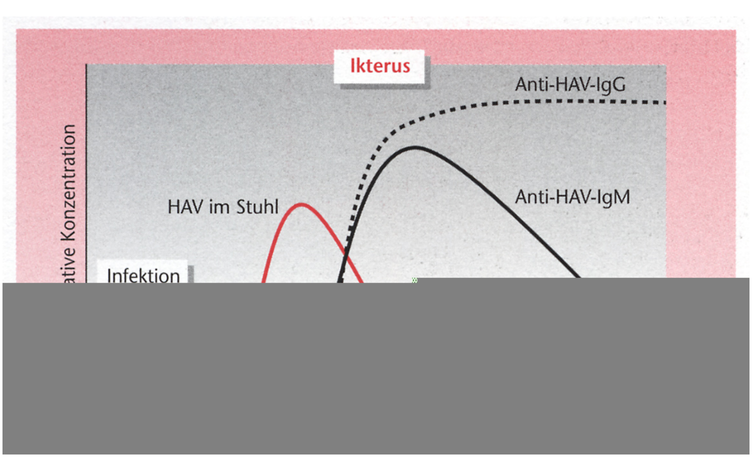
Aus den oben angeführten Gründen ist klinisch eine ätiologische Diagnose der verschiedenen, nach Enterovirusinfektionen auftretenden Krankheitsbilder nicht möglich: die Symptombilder decken oder überschneiden sich, z.T. imitieren sie Krankheiten – wie z.B. beim Exanthem –, die durch völlig andere Erreger hervorgerufen werden.

Virusnachweis

Am günstigsten ist für die Laboratoriumsdiagnose der Virusnachweis. Ausgangsmaterial hierfür sind Stuhl, Rachenabstrich und Liquor, u.U. natürlich auch ein Konjunktivalabstrich oder Organmaterial, z.B. Myokardbiopsien. Isolierungen aus dem Rachen und Liquor gelingen im allgemeinen nur in der Frühphase der Erkrankung (die Isolierung eines Virus aus dem Liquor erleichtert aber die ätiologische Zuordnung des Agens zum Krankheitsbild. Poliovirus jedoch kann nur selten aus dem Liquor isoliert werden). Der Virusnachweis im Stuhl ist dank der oft wochenlangen, jedoch auch intermittierenden Virusausscheidung der Enteroviren besonders ergiebig.

Mehrfache Probeneinsendungen steigern die Chancen der Virusisolierung!

Enteroviren, die sich in der Zellkultur vermehren, sind oft sehr schnell nachzuweisen. Diejenigen Coxsackieviren der Gruppe A, die nur für neugeborene Mäuse pathogen sind, bereiten naturgemäß größere Schwierigkeiten. Eine serologische Typisierung mit spezifischen Antiseren kann bei der Vielfalt distinkter serologischer Typen länger dauern, während einer Epidemie aber u.U. schnell gelingen, da ein bestimmter Erreger antizipiert wird.
In den letzten Jahren wurden zunehmend molekularbiologische Nachweismethoden eingesetzt, zumal nur noch in wenigen Laboratorien die erforderliche breite Palette von Zellkulturen bereitgehalten wird. Vornehmlich findet die PCR Anwendung, zumeist mit Primersequenzen, die einer großen Zahl von Enterovirustypen gemeinsam sind (5'-nichtkodierende Region). Bei positiver Reaktion kann eine weitere Differenzierung erfolgen.
In situ-Nukleinsäurehybridisierungen mit Biopsiematerial haben insbesondere bei Verdacht auf akute und chronische Myokarditiden wertvolle diagnostische und pathogenetische Aufschlüsse gebracht.
Zum **serologischen Nachweis** einer frischen In-


Ikterus
Anti-HAV-IgG
Anti-HAV-IgM
HAV im Stuhl
Infektion

Wochen erneut zu Symptomen wie bei der akuten Erkrankung kommen kann. Ein derartiger Relaps kann auch wiederholt auftreten, spätestens nach einem Jahr ist aber mit einer endgültigen Ausheilung und dem Verschwinden aller Symptome zu rechnen. Eine Hepatitis A-Infektion hinterläßt eine lebenslange Immunität.

Laboratoriumsdiagnose

Die virologische Diagnose einer Hepatitis A erfolgt üblicherweise durch den Nachweis spezifischer Antikörper gegen den Erreger (Anti-HAV) mittels Enzymimmuntesten (Tab. 6.11). Der Nachweis von HAV im Stuhl mittels immunologischer (Enzymimmuntest) oder molekularbiologischer (Polymerase-Kettenreaktion) Methoden ist ebenfalls möglich, spielt aber für die Routinediagnostik keine Rolle.
Spezifische Antikörper der Klasse IgM und IgG werden bereits in der Prodromal- und frühen Erkrankungsphase gebildet (Abb. 6.23). Methode der Wahl zum Nachweis einer akuten Hepatitis A-Infektion ist die Bestimmung von Anti-HAV der IgM-Klasse (Anti-HAV-IgM). Diese Antikörper sind bereits bei Krankheitsbeginn nachweisbar, verschwinden aber in den nächsten Wochen bis Monaten relativ schnell wieder. Die Untersuchung *einer* Serumprobe auf Anti-HAV-IgM genügt daher im allgemeinen, um eine akute Hepatitis A-Infektion zu beweisen oder auszuschließen. Spezifische Antikörper der Klasse IgG sind bei Erkrankungsbeginn meist ebenfalls schon vorhanden; sie persistieren in der Regel lebenslang (Abb. 6.23). Nachweis von Anti-HAV-IgG (außerhalb der akuten Erkrankung) zeigt eine durchgemachte Hepatitis A-Infektion an, findet sich aber auch nach Impfung gegen Hepatitis A. In beiden Fällen beweist er Immunität gegen eine Hepatitis A-Infektion.

Therapie und Prophylaxe

Eine spezifische Therapie existiert bisher nicht. Zur Immunprophylaxe stehen Immunglobulin und ein Aktivimpfstoff zur Verfügung.

Passive Immunisierung
Die passive Immunisierung erfolgt mit normalem Immunglobulin. Das in Deutschland für die Prophylaxe zugelassene Präparat enthält spezifische Antikörper (Anti-HAV) in einer Konzentration von mindestens 100 Internationalen Einheiten pro ml (IE/ml). Die Einführung der aktiven Impfung (s.u.) hat die passive Immunisierung zur **Präexpositionsprophylaxe** allerdings weitestgehend ersetzt.
Nach Kontakt mit Hepatitis A-Virus kann die Gabe von Immunglobulin die Infektion oder zumindest eine Erkrankung verhindern. Diese **Postexpositionsprophylaxe** ist angezeigt bei nichtimmunen Personen mit engem Kontakt zu akut an Hepatitis A Erkrankten; sie ist bis zu 10 Tage nach Aufnahme des Virus sinnvoll.

Aktive Immunisierung
Die aktive Immunisierung wird mit einem Totimpfstoff durchgeführt. Er enthält in menschlichen Zellen gezüchtetes, mit Formalin inaktiviertes Hepatitis A-Virus. Für eine Grundimmunisierung sind zwei Dosen notwendig, eine zu Beginn und eine zweite 6–18 Monate später. Aufgrund der hohen Immunogenität des Impfstoffs und einer vergleichsweise langen Inkubationszeit der Hepatitis A von wenigstens zwei Wochen besteht eine gute Schutzwirkung bereits unmittelbar nach der ersten Impfung. Auch eine postexpositionelle Gabe des Impfstoffs innerhalb einiger Tage nach einem Kontakt mit HAV kann noch eine Infektion – oder zumindest eine Erkrankung – verhindern. Für einen Langzeit-

Tab. 6.11 Diagnostische Marker einer Hepatitis A-Infektion

Marker	Definition	Bedeutung
Anti-HAV	Antikörper gegen HAV (IgG und IgM)	Durchseuchungsmarker, zeigt Immunität gegen Hepatitis A an
Anti-HAV-IgM	IgM-Antikörper gegen HAV	Beweisend für akute Hepatitis A
HA-Ag	Hepatitis A Virus-Antigen (Antigen der Virusoberfläche)	Infektionsmarker (im Stuhl)
HAV-RNA	Ribonukleinsäure des Hepatitis A-Virus	direkter Virusmarker beweisend für akute Infektion

schutz ist die zweite („Booster-“)Impfung notwendig; derzeit geht man von einer Schutzdauer von wenigstens zehn Jahren aus.
Hauptindikation für eine Hepatitis A-Impfung sind längere oder häufigere Aufenthalte in einem Endemiegebiet (s.u.); daneben sollten beruflich oder durch besondere Lebensumstände exponierte Menschen gegen diese Infektion geschützt werden. Darunter fallen das Personal medizinischer Einrichtungen, z.B. in Pädiatrie, Infektionsmedizin, in Laboratorien für Stuhluntersuchungen; Personal in Kinderkrippen, Kindergärten und Kinderheimen, in Einrichtungen für geistig Behinderte, sowie Kanalisations- und

Subtropen und in vielen Gegenden Osteuropas ist der Erreger endemisch. Aufgrund seiner Übertragungsweise ist das Auftreten des Hepatitis A-Virus eng an die vorherrschenden hygienischen Verhältnisse geknüpft. Wo diese mangelhaft sind, ist der Erreger verbreitet.
Für die Bewohner der westlichen Industrienationen ist die Hepatitis A in erster Linie eine Reisekrankheit. Ein gegenüber der Normalbevölkerung erhöhtes Risiko besteht auch für medizinisches Personal in der Pädiatrie, Betreuungspersonal in Kinderkrippen und Kindergärten, Personal in medizinischen Laboratorien, in denen häufig Stuhluntersuchungen durchge-

erkennbarer Kapsidstruktur (small round structured viruses, SRSV), besitzen ein einzelsträngiges Plus-Strang-RNA-Genom, werden auf gleichem Wege übertragen und sind bisher nur durch Hygienemaßnahmen zu bekämpfen. Wie andere RNA-haltige Viren zeigen sie große genetische Variabilität mit Auswirkungen auf Antigenität und pathogenes Potential. Die Unterschiede im molekularen Bereich und in der Epidemiologie erfordern jedoch ihre separate Darstellung.

6.9.1 Astroviren

Sie wurden 1975, wie kurz zuvor schon die Rotaviren, bei der Suche nach den ätiologischen Agentien des Brechdurchfalls durch direkte Elektronenmikroskopie entdeckt. Im Stuhl werden relativ große Virusmengen von bis zu 10^{10} Virus-Teilchen pro ml ausgeschieden. Sie erscheinen im diagnostischen Präparat als „nackte", 28–30 nm Partikeln mit relativ glattem Umriß und charakteristischer Kapsidstruktur. Je nach Orientierung wird eine 5- oder 6-zählige sternförmige Symmetrie erkennbar, die zur Namensgebung geführt hat (astron, griech. = Sternbild, Stern; Abb. 6.24). Astroviren verhalten sich Spezies-spezifisch und verursachen bei Geflügel, Schaf, Kalb, Ferkel, Katze, Hund und Maus im jungen Tier ebenfalls Gastroenteritiden. Beim Entenküken führen sie als Ausnahme zu einer

Eigenschaften der Erreger

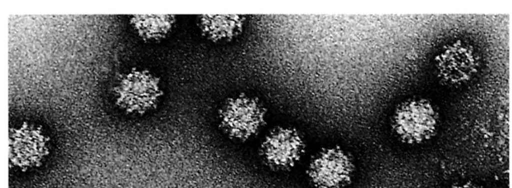
Das RNA-Genom der Astroviren umfaßt 6.800 Nukleotide und hat 3 offene Leserahmen: die beiden am 5'Ende, ORF-1a und ORF-1b, kodieren Nicht-Struktur (NS)-Proteine (ORF-1a eine Protease, ein Kern-Lokalisations-Signal und eine Leserahmen-Wechsel-Sequenz, ORF-1b nach erfolgtem Leserahmenwechsel eine RNA-abhängige RNA-Polymerase). ORF-2, der dritte, am 3´-Ende lokalisierte Leserahmen kodiert die Kapsidproteine. Bei der Infektion wird neben der 6,8 kb Gesamt-RNA auch eine subgenomische RNA von 2,4 kb Länge translatiert, die im wesentlichen den ORF-2 Bereich enthält. Von dieser RNA werden die Kapsidproteine als 87kD großes Vorläuferprotein translatiert. Im reifen Virion finden sich nach proteolytischer Spaltung mindestens 3 Kapsidproteine von 34–36 kD. Typspezifische Antigene sind an der Oberfläche des Virion lokalisiert, während interne, nicht so gut zugängliche Bereiche auch gruppenspezifische Determinanten tragen.

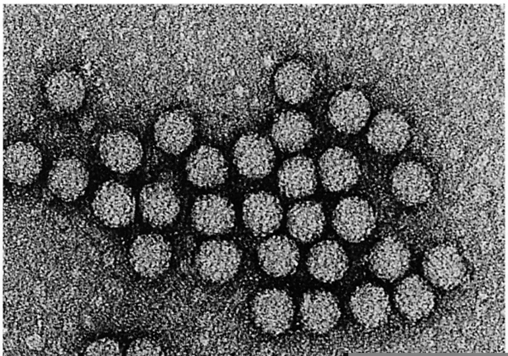
Klinik und Epidemiologie

Beim Menschen sind 8 Astrovirus-Serotypen beschrieben. Beim Kleinkind dominiert der Serotyp 1 als die nach den Rotaviren zweithäufigste Ursache für den **Brechdurchfall:** Infektionen bevorzugen Kinderheime, -krippen und -gärten, werden aber auch sporadisch bei Erwachsenen, in Altenheimen und bei Immunsupprimierten beobachtet. Die Mensch-zu-Mensch Übertragung erfolgt durch fäkal-orale Schmierinfektion, bei Erbrechen auch aerogen, aber auch durch kontaminierte Nahrung in Gemeinschaftsein-



6





bis zur Genotypisierung ermöglicht. Die Serodiagnostik erfolgt bisher nur im experimentellen ELISA unter Einsatz rekombinanter Calicivirus-Proteine: Diese werden durch Expression der aus virusreichen Stuhlproben präparierten cDNA gewonnen.

Gegen NLV und SLV gibt es keine Impfprophylaxe. Die stattgehabte Erkrankung schützt auch nicht vor weiteren Infektionen mit den zahlreichen NLV-Varianten. Die Prävention basiert damit allein auf Hygienemaßnahmen. Die große Stabilität des Virus erfordert gründliche Hygiene – besonders beim Umgang mit Erkrankten und ihren Ausscheidungen – und die Meidung von möglicherweise kontaminierten Getränken

tur den NLV. Sein RNA-Genom von 7,5 kb Länge enthält 3 Leseraster, ähnlich einem Calicivirus-Genom. In der Sequenz und in der Kodierung steht HEV jedoch dem Rötelnvirus näher; seine Klassifizierung ist letztlich noch unsicher. Anders als bei den NLV überlappen sich die 3 Leserahmen (ORF-1–3) und nutzen alle

stik zweifeln, kann aber auch so interpretiert werden, daß hier noch serologische Spuren des HEV nachgewiesen werden, während das Virus selbst inzwischen durch gesteigerte Trinkwasserhygiene weitgehend seine Endemiegebiete ver-

in den Entwicklungsländern, insbesondere aufgrund unzureichender medizinischer Versorgung, nach Schätzungen der WHO etwa 850 000 Kinder im Jahr an einer Rotavirus-induzierten Dehydratation sterben. Außer beim Menschen sind Rotaviren im Tierreich weit verbreitet. Im veterinärmedizinischen Bereich haben Rotavirusinfektionen von Kälbern eine große wirtschaftliche Bedeutung. Bei Epidemien in landwirtschaftlichen Betrieben können Rotaviren zu Verlusten in Höhe von 30% führen.

Eigenschaften der Rotaviren

Rotaviren sind RNA-Viren. Das Genom besteht aus 11 doppelsträngigen RNA-Segmenten von 0,6 bis 3,3 kb Länge. Jedes dieser Segmente kodiert ein virales Protein. Die proteinfreie RNA ist nicht infektiös, dies läßt den Schluß auf das Vorhandensein einer RNA-Polymerase zu. Analog zu Influenzaviren besteht bei Doppelinfektionen prinzipiell die Möglichkeit der Reassortantenbildung. Dieser Vorgang scheint aber bei Rotaviren eine im Vergleich zu Influenza A geringe Bedeutung zu besitzen. Das Genom ist durch ein Kapsid mit einem dreischaligen Aufbau geschützt; eine Hülle ist bei reifen Viren nicht vorhanden. Die innere Schale um das Genom, das Core, wird durch das Virusprotein (VP)2 gebildet. Innerhalb des Cores sind die Proteine 1 und 3 lokalisiert; sie werden im englischen Sprachgebrauch deshalb auch als „Subcore Proteins" bezeichnet. Mit dem Core ist die Polymeraseaktivität assoziiert. Die zweite Schale, das innere Kapsid, wird aus 260 Trimeren (780 Molekülen) des VP6 gebildet. Damit beträgt der Anteil des VP6 an der Gesamtmasse des Virus etwa 50%. Die Gruppen- und Subgruppenspezifität der Rotaviren wird durch das VP6 bestimmt. Rotaviren sind z.Z. in 7 serologisch unterscheidbare Gruppen (A bis G) eingeteilt. Beim Menschen wurden bisher ausschließlich die Gruppen A, B und C beobachtet. Die meisten epidemiologisch bedeutenden Rotaviren gehören der Gruppe A an; Gruppe B-Rotaviren konnten bei Epidemien in China isoliert werden; Gruppe C-Rotaviren wurden bisher sporadisch gefunden. Bei Gruppe A-Rotaviren sind die Subgruppen I und II bekannt.
Die dritte Schale des Virus, das äußere Kapsid, besteht aus den Oberflächenproteinen VP7 und VP4. Das Glykoprotein VP7, mit 780 Molekülen der Hauptanteil des äußeren Kapsids, bildet hierbei eine gitterförmige Grundstruktur aus. Aus dieser Grundstruktur ragen 60 etwa 12 nm lange Spikes hervor. Diese Spikes bestehen aus zwei ineinander verschlungenen VP4-Molekülen. Die Konformation dieser Spikes wird durch eine proteolytische Spaltung beeinflußt; weiter wird durch diesen Vorgang die Infektiosität erhöht. Hierzu stehen bei allen bisher sequenzierten Stämmen zwei konservierte proteolytische Spaltsequenzen zur Verfügung. Welche Bedeutung einem weiteren Spaltmotiv bei einigen humanen Stämmen zukommt, ist zur Zeit noch unklar. Elektronenmikroskopisch sind reife Rotaviren als 76 nm große symmetrische Partikel mit ikosaedrischer Struktur zu beobachten. Die ausgeprägte Radspeichenstruktur der Partikel war hierbei namensgebend (Abb. 5.7i). Im CsCl-Gradienten haben diese Partikel eine Dichte von 1,36 g/cm^3 und können von Partikeln, die nur ein inneres Kapsid besitzen (1,38 g/cm^3) oder von Core-Partikeln (1,44 g/cm^3) physikalisch getrennt werden.
Gegen beide Oberflächenproteine der Rotaviren sind neutralisierende Antikörper gerichtet. Die gegen das Glykoprotein VP7 gerichtete Aktivität kennzeichnet hierbei den G-Typ; eine spezifische Neutralisation des proteolytisch spaltbaren VP4 bestimmt den P-Typ. Zur Zeit kann zwischen 14 G-Serotypen, 7 P-Serotypen und 19 P-Genotypen unterschieden werden.
Die Replikation der Rotaviren erfolgt in den reifen Enterozyten im apikalen Bereich der Dünndarmzotten. Für die Anzucht der Rotaviren in der Zellkultur eignen sich besonders die permanente Affennierenzellinie MA104 (Abb. 6.27, s. Farbtafel) oder die humane Dünndarmepithelzellinie CaCO-2. In beiden Zellinien ist im Beisein von Trypsin die Anzucht der meisten Rotavirusstämme möglich. Der Replikationszyklus ist mit 10–12 Stunden relativ schnell und erfolgt ausschließlich im Zytoplasma der infizierten Zelle. Nach neueren Arbeiten sind Epitope des Spikeproteins VP4 für die Adsorption an die Wirtszelle verantwortlich. Der bzw. die zellulären Rezeptoren für die Adsorption sind nicht hinreichend bekannt; bei animalen Rotavirusstämmen scheint Sialinsäure beteiligt zu sein. Für humane Stämme konnte dieser Befund jedoch nicht verifiziert werden. Die anschließende Penetration der Wirtszelle wird durch fusionierende Eigenschaften des tryptisch gespaltenen VP4 innerhalb weniger Minuten erreicht; hierbei ist interessant, daß durch Endozytose aufgenommene Viruspartikel offensichtlich eine abortive Infektion durchlaufen. Ausgehend vom Negativstrang der viralen Doppelstrang-RNA erfolgt die Transkription mit Hilfe der viruskodierten Polymerase. Die nicht-glykosylierten Proteine werden im Zytoplasma der Wirtszelle synthetisiert und in Viroplasmen bereits zu subviralen Partikeln ohne äußeres Kapsid zusammengefügt. Eine Schlüsselfunktion für den weiteren Zusammenbau der Viren hat das Nichtstrukturprotein NSP4. Das NSP4 und das Glykoprotein VP7 des äußeren Kapsids werden an den Ribosomen des rauhen endoplasmatischen Retikulums (RER) gebildet. Da das NSP4 Rezeptoren für VP6- und VP4-Epitope aufweist, ist es in der Lage, sowohl subvirale Partikel als auch das im Zytoplasma synthetisierte Spikeprotein VP4 zu binden und zum Zusammenbau in das RER zu schleusen. Die reifen Rotaviren verlassen die Wirtszelle durch Zell-Lyse.

Pathogenese

Bis vor kurzem wurde die Pathogenese der Rotaviren weitgehend auf eine zytopathische Schädigung des Dünndarmepithels zurückgeführt. Wie bereits erwähnt vermehren sich Rotaviren ausschließlich in reifen Enterozyten, die auf den apikalen 2/3 der Dünndarmzotten zu finden sind. Elektronenmikroskopisch werden Nekro-

sen auf den Spitzen der Dünndarmzotten auffällig. Die infizierten Zellen zeigen zudem bereits vor der Nekrose einen Verlust von Mikrovilli. Die einsetzende Diarrhöe kann hiermit bereits durch den Verlust resorptiver Oberflächen erklärt werden. Hinweise auf eine Störung des glukoseabhängigen Na^{+}-Transports können als logische Konsequenz dieser Gewebeschädigung betrachtet werden. Neuere Untersuchungen konnten jedoch nachweisen, daß ein zusätzlicher Verstärkungsmechanismus vorliegt. Es konnte gezeigt werden, daß das Nichtstrukturprotein NSP4 die Eigenschaften eines Enterotoxins aufweist. Dieses Nichtstrukturprotein kann allerdings erst nach der initialen Replikation durch Zell-Lyse freigesetzt werden und dann einen verstärkenden Effekt auf die Erkrankung ausüben.

Klinik

Die Infektion mit Rotaviren erfolgt meist klassisch fäkal-oral. Kontaminierte Lebensmittel oder in einigen Ländern kontaminiertes Trinkwasser spielen eine Rolle. Da Rotaviren gegenüber physikalischen und chemischen Einflüssen vergleichsweise resistent sind, ist auch eine Übertragung durch kontaminierte Oberflächen zu berücksichtigen. Aus den genannten Gründen sind Rotaviren als Quelle nosokomialer Infektionen zu betrachten. Klinische Symptome einer Rotavirusinfektion treten nach einer Inkubationszeit von 1–3 Tagen auf. Die schwersten Krankheitsverläufe werden in der Altersgruppe zwischen 6 Monaten und 2 Jahren beobachtet. Erstes Anzeichen einer Rotavirusinfektion ist häufig **Erbrechen,** gefolgt von hohem **Fieber** und **Diarrhöe.**

Bei schweren Krankheitsverläufen kann der Durchfall zur Exsikkose führen. Hierbei kann ohne Gegenmaßnahmen der Tod innerhalb weniger Stunden eintreten.

Die Erkrankung kann 6 bis 8 Tage andauern. In dieser Zeit wird infektiöses Virus im Stuhl ausgeschieden. Es muß angemerkt werden, daß häufig schon vor dem Einsetzen der Diarrhöe infektiöses Virus im Stuhl nachzuweisen ist.

Laboratoriumsdiagnose

Da Rotaviren in hoher Konzentration im Stuhl ausgeschieden werden, ist ein direkter Nachweis im Stuhl möglich. Rotaviren sind relativ stabil, aus diesem Grund sind keinerlei besondere Vorkehrungen für den Probentransport notwendig. Die Virusisolierung ist inzwischen unter Zusatz von Trypsin zum Zellkulturmedium auch für humane Rotaviren mit gutem Erfolg möglich; wegen des erforderlichen Aufwandes und des vergleichsweise hohen Zeitbedarfs wird dieses Verfahren in der Routinediagnostik allerdings kaum eingesetzt. Die Elektronenmikroskopie oder Immunelektronenmikroskopie bietet neben einer schnellen Probenvorbereitung den Vorteil, daß auch Gruppe B- und C-Rotaviren sowie andere enterale Viren erfaßt werden. Als Standardmethoden sind diese Verfahren wegen des hohen instrumentellen Aufwandes und der erforderlichen Qualifikation des Experimentators ebenfalls nicht geeignet. Kommerziell vertriebene EIAs sind von verschiedenen Anbietern in guter Qualität verfügbar. Tests, die Pärchen aufeinander abgestimmter monoklonaler Antikörper verwenden, weisen meist die beste Spezifität auf. Die Selektivität ist von der Zugänglichkeit der entsprechenden Epitope und damit von den verwendeten Antikörpern abhängig. Membrangebundene Tests nach einem modifizierten EIA-Verfahren haben wegen der höheren Bindungskapazität des Trägers Vorteile in Hinblick auf die Nachweisempfindlichkeit. Die Qualität dieser Teste ist ebenfalls von den verwendeten Antikörpern abhängig. Der Nachweis von viraler Nukleinsäure aus Stuhl ist sowohl mittels der RNA-Elektrophorese als auch durch eine Hybridisierungsreaktion möglich. Beide Verfahren erreichen nicht die Nachweisempfindlichkeit der PCR, sind jedoch weniger störanfällig und zeitaufwendig als diese. Die Untersuchung der Immunantwort hat wegen der zeitlichen Verzögerung für die akute Erkrankung keine Bedeutung. Beim Kleinkind sind zudem interferierende maternale Antikörper zu berücksichtigen. Eine direkte Korrelation zwischen Serumimmunantwort und dem Verlauf der Erkrankung konnte bisher nicht aufgezeigt werden.

Immunität

Die lokalen Schutzmechanismen gegenüber einer Rotavirusinfektion sind beim Menschen nicht hinreichend untersucht. Die Infektion mit Rotaviren hinterläßt eine Serumimmunantwort, die die meisten Virusproteine umfaßt. Neutralisierende Serumantikörper sind gegen die Ober-

flächenproteine VP4 und VP7 gerichtet. Diese Antwort scheint besonders beim Kleinkind mit einer bevorzugt homotypischen Schutzwirkung verbunden zu sein. Die Ursache der stark ausgeprägten Serumimmunantwort gegenüber dem Gruppenantigen VP6 war bisher unklar und wurde vielfach mit der hohen Immunogenität der VP6-Epitope und dem großen Anteil des VP6 an der Gesamtproteinmasse (s.o.) begründet. Einzelne Berichte über die neutralisierende Wirkung von VP6-spezifischen monoklonalen Antikörpern wurden sehr kritisch diskutiert. In neueren Untersuchungen konnte jedoch im Mausmodell gezeigt werden, daß VP6-spezifische sekretorische IgA-Antikörper für die Schleimhautimmunität von Bedeutung sind. Da die Immunantwort gegen VP6 nicht an den Serotyp gebunden ist, kann hiermit die häufig beobachtete heterotypische Schutzwirkung nach einer Infektion mit nur einem Serotyp erklärt werden.

Epidemiologie

Rotaviren haben eine weltweite Verbreitung. Wie aus Abb. 6.28 hervorgeht, sind Rotaviren bevorzugt für schwerverlaufende **Gastroenteritiden** verantwortlich. Bis zum Ende des dritten Lebensjahres weisen üblicherweise 90% aller untersuchten Kinder spezifische Serumantikörper meist gegen mehr als einen Rotavirus-Serotyp auf. Häufig werden erste Rotavirusinfektionen bereits in den ersten Lebenstagen beobachtet. Diese frühen Infektionen verlaufen in der Regel mild. Als Ursache hierfür wird einerseits der übertragene maternale Immunschutz und andererseits das Vorkommen spezieller Ammenstämme auf Neugeborenenstationen diskutiert. Die höchste Inzidenz für einen schweren Krankheitsverlauf ist in der Altersgruppe zwischen 6 Monaten und 2 Jahren zu finden. Interessanterweise ist in den gemäßigten Klimazonen eine jahreszeitliche Häufung der Rotavirusinfektionen während der Wintermonate zu beobachten; der Grund hierfür ist nicht bekannt. Während Erwachsene weitgehend vor schweren Verlaufsformen einer Rotavirusinfektion geschützt zu sein scheinen, sind Rotavirusinfektionen bei älteren oder immunsupprimierten Personen von Bedeutung. Ob in Altenheimen beobachtete Epidemien durch die Art der Unterbringung, durch besonders virulente Stämme oder durch einen schlechten Immunschutz älterer Menschen bedingt sind, ist zur Zeit noch nicht eindeutig belegt.

Meldepflicht besteht für den direkten oder indirekten Nachweis von Rotaviren.

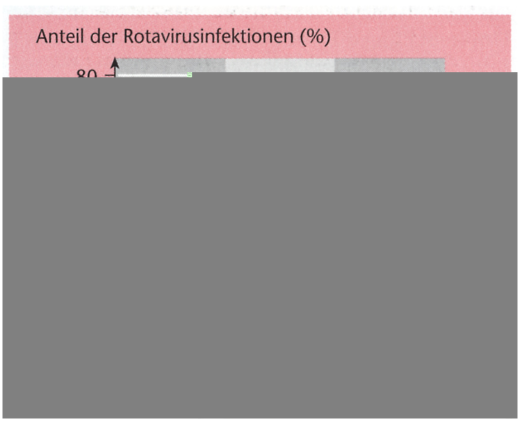


Abb. 6.28 Anteil von Rotaviren an Durchfallerkrankungen unterschiedlicher Verlaufsformen (nach Ruuska et al. 1991).

Prophylaxe und Therapie

Da Rotaviren eine Bedeutung als nosokomiale Infektionen auf Säuglings- und Kinderstationen, aber auch in Altenheimen und auf geriatrischen Stationen haben, ist zunächst zu der Einhaltung von Hygienemaßnahmen zu raten. In den Entwicklungsländern könnte eine verbesserte Trinkwasser- und Lebensmittelhygiene die Ausbreitung von Rotavirusinfektionen begrenzen. Bei der Behandlung von Rotavirusinfektionen hat sich in Ländern mit unzureichender medizinischer Versorgung die von der WHO empfohlene orale Rehydratationstherapie (ORT) bewährt. Hierbei wird eine mit einfachen Mitteln hergestellte **Elektrolytlösung** oral verabreicht. Mit dieser einfachen Maßnahme konnten beachtliche Erfolge erzielt werden.

Eine tetravalente Rhesus-Rotavirus-Vakzine konnte in klinischen Studien bei 39–48% der Impflinge vor einer Diarrhöe und bei 69–91% vor einem schweren Krankheitsverlauf schützen. Der Vertrieb dieser 1998 in den USA für die Routineanwendung freigegebenen Vakzine wurde jedoch bereits im Folgejahr vom Hersteller freiwillig eingestellt. Ursache hierfür war ein gehäuftes Auftreten von Darmeinstülpungen (Intussuszeption) im Anschluß an die Applikation des Impfstoffes; diese Komplikation wurde bei 1 von 10000 Geimpften beobachtet. Weitere Ansätze für Lebendimpfstoffe auf der Basis anderer reassortanter Rotavirusstämme und für Totimpfstoffe befinden sich z.Z. in unterschiedlichen Entwicklungsstadien.

Literatur

ESTES, M.: Rotaviruses and their replication. In: Fields Virology (Eds.: FIELDS, B. N., D. M. KNIPE, and P. M. HOWLEY). – Lippincott-Raven Publ., Philadelphia

tient oder infiziertes Tier während der Virämie von einem Insekt gestochen wird. Die Zirkulation der Arboviren wird also vom Überträger und vom Wirt in Abhängigkeit von den Umwelt-

Virus	Vorkommen	Erkrankung
Eastern Equine Encephalitis	Amerika	Enzephalitis
Venezuelan Equine Encephalitis	Nord-/Südamerika,	Enzephalitis, Fieber
Western Equine Encephalitis	Nord-/Südamerika, Rußland	Enzephalitis, Fieber, Exanthem, Arthritis
Semliki-Forest	Afrika, Asien	Enzephalitis, Fieber, Exanthem, Arthritis

Tab. 6.13 Einige Alphaviren, klinische Krankheitsbilder und ihr Vorkommen

teten Enzephalitiden, die eine Letalität von 50–70% aufweisen.

Western-Equine-Encephalitis (WEE)
Im Westen und Südwesten der USA wird diese Infektion durch Vektoren von infizierten Pferden auf den Menschen übertragen. Die Infektion verläuft in den meisten Fällen subklinisch, doch treten auch Enzephalitiden mit mittelschweren Symptomen auf. Die EEE und die WEE sind vor allem im Sommer und Herbst anzutreffen. Durch erfolgreiche Vakzination von Pferden kann die Erkrankung eingedämmt werden.

Venezuelan-Equine-Encephalitis (VEE)
Diese Form der Enzephalitis findet sich in Zentral- und Südamerika sowie auf den Westindischen Inseln. Beim Menschen kommt es nach Übertragung zu einer Influenza-ähnlichen Erkrankung oder zu einer relativ leichten Enzephalitis.

Laboratoriumsdiagnose

Die Virusisolierung ist relativ schwierig und gelingt meistens nur durch Verimpfung von infiziertem Hirnmaterial auf empfängliche Labortiere oder Gewebekulturen. Serologisch läßt sich häufig eine virusspezifische IgM-Reaktion gegen diese Erreger im ELISA nachweisen, sonst stehen Komplementbindungs- bzw. Hämagglutinations-Hemmreaktionen zur Verfügung.

6.11.2 Rötelnvirus, Röteln

Das Röteln- oder Rubellavirus wird aufgrund seiner strukturellen und biochemischen Eigenschaften den Togaviren zugeordnet. Es wird nicht von Arthropoden übertragen (s. Tab. 6.12), sondern die horizontale Transmission erfolgt durch Tröpfcheninfektion.

Struktur und Eigenschaften

Rötelnviren sind sphärische Partikel mit einem Durchmesser von 50–70 nm. Sie enthalten eine helikale Nukleokapsidstruktur, die von einer **einsträngigen,** infektiösen **RNA** und dem Nukleokapsidprotein gebildet wird. Die Außenhülle des Virus wird durch einen intrazytoplasmatischen Budding-Prozeß gebildet.
Das Rötelnvirus weist drei Strukturproteine auf: zwei membrangebundene Glykoproteine, E1 und E2, sowie ein nicht-glykosyliertes Nukleokapsid-Protein (C). Das E1-Protein besitzt hämagglutinierende, hämolysierende und neutralisierende Eigenschaften, während das E2-Protein nur neutralisierende Immunreaktionen induzieren kann.

Pathogenese

Akute Röteln
Nach Exposition kommt es zunächst zu einer lokalisierten Infektion des Respirationstraktepithels, von dem sich das Virus über regionale Lymphknoten weiter ausbreitet. 3–8 Tage später erfolgt Virusausscheidung im Nasopharynx mit anschließender Virämie. Zwischen dem 8. und 14. Tag kommt es zu einem makulösen Hautexanthem bei bestehender Virämie und Virusausscheidung im Urin. Über diesen Zeitraum hinaus (10.–24. Tag) wird weiterhin Virus über den Respirationstrakt ausgeschieden. Aus diesem Grunde ist eine genaue Bestimmung des Kontagiositätszeitraumes einer infizierten Person schwierig.

Konnatale Röteln
Die auftretenden Schädigungen sind vom Zeitpunkt der Infektion abhängig. Die Infektion erfolgt während der Virämie über die Plazenta.

In den ersten 16 Wochen der Schwangerschaft führt die Rötelninfektion der Mutter fast immer zu einer Infektion der Frucht, wobei die Schädigungsrate von 50–60% im ersten auf ca. 7% im 4. Schwangerschaftsmonat abnimmt.

Nach der 16. Schwangerschaftswoche sind Rötelninfektionen für die Frucht eigentlich nicht mehr gefährlich, denn nur noch selten werden dann Neugeborene beobachtet, die Schädigungen aufweisen. Der Zusammenhang zwischen dem Gestationsalter und dem Zeitpunkt der Infektion weist darauf hin, daß die Rötelninfektion dann am gefährlichsten ist, wenn sie zum Zeitpunkt der Organogenese manifest wird.

Klinik

Postnatale Röteln

Die Krankheit beginnt nach einer Inkubationszeit von 2–3 Wochen (im Mittel 17 Tage) mit diskreten Prodromalerscheinungen, bestehend aus Konjunktivitis, Schnupfen, Kopfschmerzen und einem kleinfleckigen Exanthem am weichen Gaumen. Diese Symptome können jedoch auch fehlen, so daß die Krankheit direkt mit dem **Exanthem** beginnt, das hinter den Ohren beginnt und sich über Gesicht, Hals und Rumpf ausbreitet. Die Mehrzahl der Rötelnfälle verläuft leicht mit wenig erhöhten Temperaturen. Das Exanthem kann auch fehlen.

Charakteristisch ist eine generalisierte Lymphadenitis, insbesondere die nuchalen und retroaurikulären Lymphknoten sind manchmal stark vergrößert.

Komplikationen sind selten; Arthritis, Enzephalitis, Otitis, Bronchitis, Myokarditis und Perikarditis kommen vor. Die Röteln hinterlassen eine langdauernde, oft lebenslange Immunität.

Konnatale Röteln

Dieses Krankheitsbild, als Folge einer vertikalen Infektion während der ersten vier Schwangerschaftsmonate, stellt die **größte Komplikation** einer Rötelninfektion dar. Derartige Infektionen können zu einer Abstoßung der Frucht, zu vorübergehenden oder permanenten Organstörungen führen. Zu den **vorübergehenden Veränderungen** in Neugeborenen oder Säuglingen gehören reduziertes Geburtsgewicht, thrombozytopenische Purpura, Hepatosplenomegalie, Meningoenzephalitis, Adenopathie, Hepatitis, Pneumonie oder Myokarditis. **Permanente Schädigungen** als Folge der intrauterinen Infektion sind Innenohrtaubheit, Kataraktbildung, Herzfehler, Mikrozephalie, Retinopathie, Glaukom und Myopathie. Außerdem kann sich gelegentlich eine *progressive Rötelnpanenzephalitis* (PRP) einstellen. Hierbei handelt es sich um eine chronisch-entzündliche, progressive ZNS-Erkrankung als Folge einer persistierenden Rötelninfektion. Diese *Slow-Virus-Erkrankung* ist sehr selten und entwickelt sich normalerweise nach konnatalen Röteln. Es gibt jedoch auch einige Fälle von postnataler PRP. Die mittlere Inkubationszeit beträgt 10–15 Jahre. Die Pathogenese dieser Erkrankung ist unbekannt.

Laboratoriumsdiagnose

Da die klinische Diagnose einer akuten Rötelninfektion häufig nicht sicher gestellt werden kann, sind Laboratoriumsuntersuchungen, insbesondere bei bestehender Schwangerschaft, erforderlich.

Virusnachweis

Virusisolierungen oder der Nachweis von viraler RNA mittels einer „reverse transcription polymerase chain reaction" (RT-PCR) werden für die Diagnose einer akuten Rötelninfektion im allgemeinen nicht durchgeführt. Nur zum Nachweis der konnatalen Rötelninfektion wird Virus aus Untersuchungsmaterial (z.B. Rachenabstrich, Linsenaspirat, Stuhlprobe, Urin, Liquor etc.) in Gewebekultur angezüchtet oder durch RT-PCR identifiziert.

Antikörpernachweis

Eine Diagnose kann aufgrund des Antikörpertiteranstieges in zwei zeitgerecht entnommenen Blutproben (Abstand ca. 10 Tage) mittels des Hämagglutinations-Hemmtests, ELISA etc. oder durch den Nachweis von rötelnspezifischen IgM-Antikörpern gesichert werden. Zum Beleg konnataler Röteln wird serologisch der Nachweis rötelnspezifischer IgM-Antikörper im Nabelschnurblut oder in Serumproben des Neugeborenen gefordert bzw. der Nachweis von persistierenden rötelnspezifischen IgG-Antikörpern in Serum oder Speichel zu einem Zeitpunkt, wenn transplazentar übertragene maternale Antikörper nicht mehr vorhanden sind (ab ca. 8 Monaten), gefordert.

Serologische Untersuchungen in der Schwangerschaft

In diesem Zusammenhang sei auf die **Mutterschaftsrichtlinien** des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen in der Neufassung vom 10.12.1985, zuletzt geändert am 14.12.1995,

hingewiesen, veröffentlicht im Bundesanzeiger vom 22.2.1996.

Bei jeder Schwangeren sollten möglichst frühzeitig folgende serologische Untersuchungen vorgenommen werden:
1. TPHA als Lues-Suchreaktion
2. der Röteln-Hämagglutinations-Hemmtest (Röteln-HAH)
3. ggf. ein HIV-Test
4. HBsAg nach der 32. Schwangerschaftswoche, möglichst nah am Geburtstermin
5. die Bestimmung der Blutgruppe und des Rh-Faktors D
6. ein Antikörper-Suchtest (AK) gegen zwei Bluttestmuster.

Röteln
Wenn spezifische Antikörper rechtzeitig vor Eintritt in die Schwangerschaft nachgewiesen worden sind, ist Immunität und damit Schutz vor Röteln-Embryopathie anzunehmen. Die Befunde müssen ordnungsgemäß dokumentiert und in einem **Mutterpaß** eingetragen sein. Auch nach Rötelnschutzimpfung ist der Nachweis von spezifischen Antikörpern zu erbringen.
Liegen entsprechende Befunde nicht vor, ist der Immunstatus der Schwangeren mit dem Röteln-Hämagglutinations-Hemmtest (HAH) zu bestimmen.

Ein positiver Antikörper-Nachweis gilt als erbracht, wenn der HAH-Titer mindestens 1 : 32 beträgt.

Bei niedrigeren HAH-Titern ist die Spezifität des Antikörper-Nachweises durch eine andere geeignete Methode zu sichern. Bei Bestätigung der Spezifität kann auch dann Immunität angenommen werden.
Wird Immunität erstmals während der laufenden Schwangerschaft festgestellt, kann Schutz vor einer Röteln-Embryopathie nur dann angenommen werden, wenn sich aus der gezielt erhobenen Anamnese keine für die Schwangerschaft relevanten Anhaltspunkte für Röteln-Kontakte oder eine frische Röteln-Infektion ergeben. Bei auffälliger Anamnese sind weitere serologische Untersuchungen erforderlich (Nachweis Röteln-spezifischer IgM-Antikörper und/oder Kontrolle des Titerverlaufs).
Es ist aber zu beachten, daß die Röteln-Infektion häufig klinisch inapparent verlaufen kann! Schwangere, bei denen keine Immunität angenommen werden kann, sollen aufgefordert werden, sich unverzüglich zur ärztlichen Beratung zu begeben, falls sie innerhalb der ersten 4 Schwangerschaftsmonate Röteln-Kontakt haben oder an Röteln-verdächtigen Symptomen erkranken (Antikörper-Verlaufskontrolle).
Eine Behandlung mit Röteln-Immunglobulin ist nur sinnvoll bis zu höchstens 7 Tage nach der Exposition. Nach Röteln-Immunglobulingabe zur Verhinderung der Embryopathie muß der Erfolg der Behandlung überprüft werden. Eine aktive Röteln-Schutzimpfung soll während der Schwangerschaft nicht vorgenommen werden.

Epidemiologie

Röteln sind eine ubiquitäre Infektionskrankheit, die vor allem durch Tröpfcheninfektion übertragen wird. Rötelnerkrankte sind von Beginn des Prodromalstadiums bis zum vollen Erscheinungsbild des Exanthems als kontagiös anzusehen. Die Empfänglichkeit für das Rötelnvirus ist nicht so groß wie für Masern- oder Varizellenvirus, doch gibt es häufig inapparente Infektionen, deren zahlenmäßige Bedeutung nicht voll erfaßt ist. Eine allgemeine Durchseuchung mit dem Rötelnvirus im ersten Lebensjahrzehnt findet nicht statt, und die individuelle Infektionsempfänglichkeit scheint von zahlreichen Faktoren abhängig zu sein. Rötelnepidemien werden in größeren Jahresabständen immer wieder beobachtet. Zwischenzeitlich kommt es zum Auftreten sporadischer Erkrankungen. Bemerkenswert ist ein saisonales Muster der Rötelninfektion mit Bevorzugung der späten Winter- und der Frühjahrsmonate.

Prophylaxe

Impfstoffe mit attenuiertem Rötelnvirus stehen zur Verfügung. Einmalige Applikation von attenuiertem Rötelnvirus führt zu einer 90–95%igen Serokonversion. Die Impfung wird im allgemeinen gut vertragen, vorübergehende Arthralgien, Arthritiden, Fieber oder Exantheme sind selten. Die Antikörpertiter nach Rötelnimpfung liegen im Durchschnitt unter denen, die nach einer Infektion mit Wildvirus beobachtet werden. Die Impftiter persistieren jedoch über viele Jahre. Impfungen in der Schwangerschaft sind kontraindiziert, da das Impfvirus die Frucht infizieren kann, auch wenn das theoretische Risiko einer Rötelnembryopathie hierbei sehr gering ist (ca. 1,2%).

Literatur

JOHNSTON, R. E. and C. J. PETERS: Alphaviruses. In: B.N. FIELDS „Virology", 3rd ed., 843–898, Raven Press, New York 1996.

WOLINSKY, J. S.: Rubella. In: B.N. FIELDS Virology , 3rd ed., 899–929, Raven Press, New York 1996.

6.12 Flaviviren, Hepatitis C-Virus (HCV) und Hepatitis G-Virus (HGV)

HEIDI HOLZMANN, FRANZ X. HEINZ

Flaviviren werden dem Genus Flavivirus und Hepatitis C-Viren dem Genus Hepacivirus in der Familie *Flaviviridae* zugeordnet. Es handelt sich dabei um kleine sphärische Viren (Durchmesser 40–60 nm) mit einer Lipidhülle, deren Genom aus einer einzelsträngigen RNA mit Messenger RNA-Polarität besteht. Das isometrische Kapsid wird aus einem einzigen Kapsidprotein aufgebaut; in die Virusmembran sind 2 virale Hüllproteine eingebaut. Die Molekularbiologie der Virusreplikation weist bei Flavi- und Hepaciviren große Ähnlichkeiten auf, allerdings besteht keinerlei serologische Verwandtschaft zwischen den beiden Genera, die sich auch in anderen biologischen Eigenschaften wie Übertragungsart, Wirtsbereich und natürlichem Reservoir grundsätzlich unterscheiden.

6.12.1 Flaviviren

Zur Zeit sind etwa 70 verschiedene Flaviviren bekannt, von denen die meisten durch Arthropoden (Stechmücken oder Zecken), in denen sie aktiv replizieren, übertragen werden. In diesen Fällen handelt es sich also um ARBO (arthro-

Alle Flaviviren sind immunologisch miteinander verwandt und serologische Kreuzreaktionen manifestieren sich in verschiedenen diagnostischen Testsystemen wie dem Hämagglutinationshemmtest oder Enzymimmunoassays. Neutralisationstests hingegen sind wesentlich spezifischer und werden zur Unterteilung der Flaviviren in einzelne Serokomplexe, die näher miteinander verwandte Viren umfassen, herangezogen. Gelbfieber-, Dengue-, Japanische Enzephalitis- und FSME-Viren gehören jeweils verschiedenen Serokomplexen an, zwischen denen keinerlei Kreuzneutralisation und auch keine Kreuzprotektion besteht. Sehr wohl aber werden beispielsweise durch eine Dengue-Virusinfektion oder eine Gelbfieberimpfung Antikörper induziert, die in einem zur Diagnostik eingesetzten Immunoassay mit allen anderen Flaviviren kreuzreagieren. Dies kann zu beträchtlichen Problemen im Zusammenhang mit einer typenspezifischen Serodiagnostik bzw. Immunitätsbestimmung führen.

Durch Zecken übertragene Flaviviren

FSME-Virus

Klinik

In Europa verläuft ein signifikanter Teil der Infektionen klinisch inapparent, eine klinisch manifeste Erkrankung des ZNS wird in ca. 10–30% der Infektionen beobachtet. Der Krankheitsverlauf ist meist biphasisch, jedoch kann auch eines der beiden Stadien fehlen. In typischen Fällen setzt die Phase 1 **(Stadium der Virämie)** nach einer durchschnittlichen Inkubationszeit von etwa einer Woche (3–14 Tage) mit einem fieberhaften grippalen Infekt ein, begleitet von uncharakteristischen Beschwerden (Kopf-, Kreuz- und Gliederschmerzen) sowie

nen bei 10–20% der Patienten über lange Zeit oder sogar permanent bestehen bleiben. Die natürliche Infektion hinterläßt eine lebenslange Immunität, unabhängig davon, ob sie klinisch manifest oder inapparent verlaufen ist.

Laboratoriumsdiagnose
Die **Methode der Wahl ist der Nachweis spezifischer IgM- und IgG-Antikörper im Serum des Patienten,** die bei manifester Erkrankung (Phase 2), also dem Zeitpunkt der Spitalseinweisung, fast immer vorhanden sind. Zu diesem Zeitpunkt sind auch bereits in ca. 50% der Fälle spezifische IgM-Antikörper im Liquor nachweisbar.

Epidemiologie und Bekämpfung
Die Verbreitungsgebiete des FSME-Virus erstrecken sich über viele Länder Europas (nicht betroffen sind Großbritannien, die Benelux-Länder und die Iberische Halbinsel), weite Teile der früheren Sowjetunion, Nordchina und Nordjapan (Hokkaido). Die Variation des Virus im gesamten geographischen Verbreitungsgebiet ist gering, allerdings können 3 miteinander nahe verwandte Subtypen unterschieden werden (Europäischer, Sibirischer, Fernöstlicher Subtyp).

- *Kyasanur Forest Disease-Virus*: hämorrhagisches Fieber; Indien.
- *Omsk hämorrhagisches Fieber-Virus*: Sibirien, Rußland.

Durch Stechmücken übertragene Flaviviren

Gelbfieber Virus
Klinik
Die Inkubationszeit beträgt 3–6 Tage. Das Krankheitsspektrum variiert von einer sehr milden, unspezifischen fieberhaften Erkrankung (häufig) bis hin zum schweren, klassischen **Gelbfieber,** einer hämorrhagischen Erkrankung, die durch vaskuläre Permeabilität, intravaskuläre Koagulation, Schocksyndrom und Bildung von Immunkomplexen charakterisiert ist. Das klinische Bild eines biphasischen, schweren Verlaufs beginnt abrupt mit hohem Fieber (bis 40 °C), starken Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, lumbosakralen und epigastrischen Schmerzen, generalisierten Myalgien, Gelbfärbung der Skleren und evtl. kleinen gingivalen Hämorrhagien. Dieser Zustand dauert etwa 3 Tage (virämische Phase). Nach einer kurzen Erholungsphase

6

6

nicht effizient in Zellkulturen vermehrt werden. Allerdings kann es experimentell auf Schimpansen übertragen werden.

Hepatitis C-Virus

Klinik
Die Inkubationzeit der Hepatitis C beträgt etwa 2 bis 8 Wochen. Während nur etwa 15% der Infizierten eine klinisch symptomatische Hepatitis entwickeln, **bleibt in den meisten Fällen die Infektion klinisch unauffällig** oder wird nur von vagen, unspezifischen Symptomen wie z.B. Müdigkeit, subfebrilen Temperaturen etc. begleitet.

Ca. 85% aller Infektionen verlaufen chronisch, und es kommt zu einer Viruspersistenz.

Die Serum-Transaminasewerte chronisch Infizierter können persistierend oder intermittierend erhöht sein, aber auch im Normbereich bleiben. Unabhängig davon finden sich bei fast allen chronisch Infizierten histologische Zeichen einer **chronischen Hepatitis.** Eine **Leberzirrhose** entwickelt sich in der Regel nur sehr langsam im Verlauf von Jahrzehnten, die in weiterer Folge in 1–4% der Fälle pro Jahr zur Entwicklung eines primären **hepatozellulären Karzinoms** führt. Eine Zirrhose tritt häufiger bei Männern auf sowie bei Personen, die erst im Alter von > 50 Jahren infiziert wurden; auch Alkoholkonsum ist

PCR negativ ausfallen, steht zur Klärung einer HCV-Infektion noch ein Hepatitis C-Antikörperbestätigungstest zur Verfügung, bei dem Antikörperpopulationen gegen verschiedene HCV-Proteine gemessen werden. Da die PCR wesentlich früher nach der Infektion positiv ausfällt (im Durchschnitt schon nach 20 Tagen) als der Antikörpernachweis, ist sie auch das diagnostische Mittel der Wahl für die rasche Diagnose einer Frischinfektion. Zur Einschätzung der Erfolgsaussichten einer Therapie sollte sowohl vor als auch während der Therapie ein quantitativer Virusnukleinsäurenachweis durchgeführt werden. Auch eine Genotypisierung ist sinnvoll, weil verschiedene Subtypen sehr unterschiedlich auf die zur Zeit verwendeten Therapieformen ansprechen.

Therapie
Anfänglich war nur Interferon-α das Medikament der Wahl, wobei der Therapieerfolg jedoch relativ gering war. Die Angaben über einen dauerhaften Erfolg schwanken beträchtlich und sind abhängig von der Höhe der Virämie, Genotyp (1b am schlechtesten), Therapiedauer und -dosis. Mittlerweile wird häufig eine Kombinationstherapie von Interferon-α mit Ribavirin angewendet, wodurch die Heilungsrate wesentlich verbessert werden konnte. Weitere Fortschritte in bezug auf die Ansprechraten konnten durch eine Tripel-Therapie

afrika, Typ 5 in Südafrika und Typ 6 in Asien. Vor der Entdeckung des Erregers 1988 und somit vor der Entwicklung von Screeningmöglichkeiten war HCV die Hauptursache der Posttransfusions-Non-A-Non-B-Hepatitis. Heute beträgt das Risiko in den Industrieländern, durch eine Bluttransfusion infiziert zu werden, etwa 1:100000. Derzeit ist der i.v. Drogenkonsum die häufigste Infektionsquelle. Das Infektionsrisiko wird im medizinischen Bereich nach einer Nadelstichverletzung mit HCV-kontaminiertem Blut auf ca. 3% geschätzt. Zu einer perinatalen Virusübertragung kommt es nur in 3–5% der Fälle. Eine Koinfektion mit HIV erhöht das kindliche Infektionsrisiko, während eine Übertragung durch die Muttermilch extrem selten beobachtet wird. Eine sexuelle Transmission ist nach wie vor unklar und scheint, wenn überhaupt, sehr selten zu sein. Die Gefahr einer Übertragung durch Haushaltskontakte ist ebenfalls gering; Infektionen sind wahrscheinlich auf blutige Kontakte zurückzuführen. Bei einem Teil der Fälle ist die Ursache der Infektion unbekannt.

Zur Zeit steht noch kein Impfstoff zur Verfügung.

Meldepflicht besteht für alle direkten oder indirekten HCV-Nachweise, soweit nicht bekannt ist, daß eine chronische Infektion vorliegt.

Hepatitis G-Virus (HGV / GBV-C)

Dieses Virus ist mit dem HCV verwandt, wird durch Blut und Blutprodukte übertragen und wurde ursprünglich als Hepatitisvirus beschrieben. In den Industrieländern beträgt die Durchseuchung mit diesem Virus etwa 1,5%. Seine Pathogenität konnte jedoch bisher nicht bestätigt werden.

Literatur

MONATH, T. P. und F. X. HEINZ: Flaviviruses. In: Fields Virology (Eds. FIELDS, B.N., D. M. KNIPE and P. M. HOWLEY) 3rd Ed., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 1996, 961–1034.

Rigau-Perez, J.G., G. G.Clark, D. J. Gubler, P. Reiter, E. J. Sanders, and A.V. Vorndam: Dengue and Dengue haemorrhagic fever. Lancet 352 (1998) 971–977.

DI BISCEGLIE, A. M.: Hepatitis C. Lancet 351 (1998) 351–355.

6.13 Bunyaviren

VOLKER TER MEULEN

Bunyaviren stellen eine große Gruppe von Erregern dar, die oft durch Vektoren übertragen werden. Insgesamt sind etwa 300 Serotypen bekannt, die in 5 Genera aufgeteilt werden (Bunya-, Hanta , Nairo-, Phlebo-, Tospovirus). Von den Bunyaviren sind nur einige von klinischer Bedeutung.

Struktur und Eigenschaften

Die Viruspartikel sind sphärisch oder oval und haben durchschnittlich einen Durchmesser von 80–120 nm. Sie enthalten eine genomische RNA, die aus 3 Segmenten besteht und nicht infektiös ist (als Folge der „ambisense"-Polarität, s. Kap. 5). Die Bunyaviren enthalten 3 wichtige Strukturproteine, von denen 2 als Glykoproteine auf der Außenhülle erscheinen, während das dritte das Nukleokapsidprotein darstellt. Die Oberflächenstrukturproteine induzieren hämagglutinationsinhibierende und komplementfixierende Antikörper.

Klinik

Die für den Menschen pathogenen Erreger erzeugen in den meisten Fällen fieberhafte Erkrankungen, wie z.B. **Rift-Valley-Fieber** oder das **Neapolitanische** und **Sizilianische Sandflohfieber.** Es können jedoch auch Enzephalitiden **(Kalifornische Enzephalitis)** oder hämorrhagische und renale Symptome, z.B. durch Infektionen mit dem Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus oder Hanta-Viren, auftreten. Da es sich hierbei vornehmlich um außereuropäische Erkrankungen handelt, wird auf Spezialliteratur verwiesen. Eine Ausnahme ist die Gruppe der **Hantaviren,** die auch in Europa vorkommt. In Europa (aber nicht nur hier) kommen die Serotypen Hantaan, Puumala, Belgrad und Seoul vor. In Mittel- und Nordeuropa wird vornehmlich der Serotyp Puumala angetroffen.
Infektionen mit diesen Erregern führen zu einem hämorrhagischen Fieber, das inzwischen in ganz Europa als **Nephropathia epidemica** bekannt ist. Vielfach verbreitet ist auch die Bezeichnung ***hämorrhagische Fieber mit renalem Syndrom*** **(HFRS).** Die Infektionen verlaufen unterschiedlich schwer und können zum Tode führen. Wie schon in Kap. 5 erwähnt, wurde 1993 im Südwesten der USA das hochletale (ca. 50%) Hantavirus pulmonale Syndrom erstmals beobachtet, das durch das Hantavirus Sin

Nombre hervorgerufen wird. Träger des Virus ist *Peromyscus maniculatus* („deer mouse“, Weißfußmaus).

Laboratoriumsdiagnose

Virusnachweis. Für Vertreter der Bunyaviren bestehen Isolierungsmöglichkeiten in Gewebekulturen und Labortieren, sowie der Nachweis mittels der RT-PCR.

Antikörpernachweis. Antikörper können, je nach Erreger, im Hämagglutinationshemmtest, mit der Komplementbindungsreaktion, der Immunfluoreszenztechnik oder im ELISA nachgewiesen werden.

Epidemiologie

Die Erreger werden durch Moskito oder andere Vektoren übertragen. Eine Ausnahme machen die Hantaviren, die durch direkten Kontakt von Mensch und Nagerausscheidungen (Brandmaus: *Apodemus agrarius*) übertragen werden. Die In-

familie der *Coronaviridae*. Die Verwandtschaft mit den Toroviren beruht vor allem auf der ähnlichen Genomstruktur sowie vergleichbaren Strategien bei der Expression und Replikation des viralen Genoms.

Struktur und Eigenschaften

Coronaviruspartikel sind pleomorph und haben einen Durchmesser von etwa 60–220 nm. Das virale Genom ist eine einzelsträngige, polyadenylierte RNA positiver Polarität von etwa 30 000 Nukleotiden. Coronaviren sind damit die weitaus größten bekannten RNA-Viren. Die virale RNA bildet mit dem Nukleokapsidprotein einen Ribonukleoproteinkomplex, der von einer Außenhülle („envelope“) umgeben ist. Die Virushülle besteht aus einer von der infizierten Zelle bereitgestellten Membran, in die drei viruskodierte Hüllproteine eingelagert sind: das Oberfächenglykoprotein (S), das Membranprotein (M) sowie das Envelopeprotein (E). Einige Coronaviren besitzen darüber hinaus ein viertes

nung treten. Neben den Rhinoviren sind die Coronaviren wahrscheinlich die häufigsten Erreger banaler respiratorischer Infekte, wobei davon ausgegangen wird, daß etwa 25% aller Erkältungskrankheiten durch Coronaviren hervorgerufen werden. Schwere Krankheitsverläufe von Coronavirusinfektionen unter Beteiligung des unteren Respirationstraktes sind vor allem bei vorbestehenden Grunderkrankungen möglich (z.B. Asthma bronchiale, chronisch-obstruktive Bronchitis). Weiterhin gilt eine Assoziation von Coronaviren mit gastrointestinalen Infektionen, einschließlich hämorrhagischer Enteritiden, als wahrscheinlich.

Laboratoriumsdiagnostik

Virusnachweis

Es gibt bisher kein etabliertes Zellkultursystem für Wildtyp-Isolate humaner Coronaviren. Die derzeitig verfügbaren Laborstämme wurden deshalb zunächst in Organkulturen (embryonale Trachea) angezüchtet und anschließend auf das Wachstum in primären Zell-Linien adaptiert. Aufgrund dieser Schwierigkeiten werden Virusisolierungen im Rahmen der Virusdiagnostik praktisch nicht vorgenommen. Alternative diagnostische Verfahren zum Nachweis von Coronaviren oder Virusantigenen in der Nasenspülflüssigkeit (Elektronenmikroskopie, Immunelektronenmikroskopie, Immunfluoreszenz, In-situ-Hybridisierung) stehen zur Verfügung; sie finden jedoch in der Routinediagnostik wegen ihres großen Aufwandes kaum Anwendung. Als zuverlässigste Methode zum Nachweis von Coronavirusinfektionen hat sich seit einigen

trägt ca. 2–5 Tage. Die durch Coronaviren ausgelöste Immunität ist sehr flüchtig, so daß Reinfektionen häufig beobachtet werden.

Prophylaxe: Nicht bekannt.

6.15 Orthomyxoviren, Influenza (Grippe)

Hans-Dieter Klenk

Influenzaviren sind segmentierte Negativstrang-RNA-Viren, die sich durch eine hohe genetische Variabilität auszeichnen und bei Mensch und Tier in großer Mannigfaltigkeit vorkommen. Sie sind die Erreger der **Grippe,** einer periodisch auftretenden, akuten Infektionskrankheit des Respirationstrakts, von der regelmäßig weite Teile der menschlichen Bevölkerung befallen werden.

Grippeausbrüche lassen sich bis ins Altertum zurückverfolgen. Besonders verheerend war die sog. Spanische Grippe, der in den Jahren 1918 und 1919 weltweit schätzungsweise 20–40 Millionen Menschen zum Opfer fielen. In den 30er Jahren konnten die Influenzaviren als Erreger der Grippe bei Mensch und Schwein identifiziert werden. Zwanzig Jahre später hat man gefunden, daß Influenzaviren auch bei Vögeln vorkommen. Damit war es möglich geworden, diese Krankheitserreger einer systematischen Erforschung zu unterziehen. Trotz detaillierter Kenntnisse über Struktur und Vermehrung sind jedoch viele Fragen zur Epidemiologie und Pathogenität der Influenzaviren noch offen.

Eigenschaften der Influenzaviren

ihrer Innenseite von einem Matrixprotein ausgekleidet wird und an ihrer Oberfläche Glykoprotein-Spikes trägt. Bei den Influenza A- und B-Viren unterscheidet man Hämagglutinin (HA)-Spikes, die Rezeptorbindungs- und Fusionseigenschaften besitzen, und Neuraminidase (NA)-Spikes, die eine rezeptorzerstörende Funktion haben. Voraussetzung für die Fusionsfähigkeit von HA ist die Spaltung des Glykoproteins durch zelluläre Proteasen in 2 Untereinheiten und eine sich daran anschließende pH-abhängige Konformationsänderung. Durch diesen Aktivierungsprozeß wird die Fusionsdomäne von HA so exponiert, daß sie in die Zielmembran

gen. Während das Hämagglutinin Epitope trägt, die die Bildung neutralisierender Antikörper induzieren, hemmen neuraminidasespezifische Antikörper die Ausschleusung neugebildeter Viruspartikel aus der Zelle und damit deren Ausbreitung im Organismus. Matrix- und Nukleokapsidprotein zeigen typspezifische Antigenität und erlauben so die serologische Differenzierung in die Typen A, B und C.

Das Hämagglutinin vermittelt Adsorption und Penetration der Influenzaviren, indem es zunächst an Neuraminsäurerezeptoren auf der Zelloberfläche andockt und dann nach rezeptorvermittelter Endozytose der Viruspartikel die

mamembran transportiert, an der die neuen Viruspartikel in einem Knospungsprozeß gebildet werden.

Pathogenität

Influenzaviren zeigen große Unterschiede in Organtropismus und Schweregrad der Erkrankung. Während es sich bei den Influenzaviren von Mensch und Säugern um pneumotrope Erreger handelt, führen einige Influenzaviren bei Vögeln zu systemischen Infektionen, die in der Regel letal sind. Zur Pathogenität tragen viele biologische Eigenschaften der Erreger bei, wie z.B. Vermehrungseffizienz, Gewebstropismus, Infektionsausbreitung und Empfindlichkeit gegenüber den Abwehrmechanismen des Wirts. So sind der Immunstatus der menschlichen Bevölkerung und das Ausmaß der Antigenunterschiede zwischen den verschiedenen Erregern wesentliche Ursachen dafür, daß neue pandemische Viren in der Regel zu schwereren Verlaufsformen führen als interpandemische Erreger. In jeder Phase des Vermehrungszyklus gehen die verschiedenen Virusproteine spezifische Wech-

Klinik

Die **Grippe** ist eine hochkontagiöse Erkrankung, die durch Tröpfcheninfektion übertragen wird. Die Virusvermehrung erfolgt in den Epithelien des Atmungstrakts und erreicht 2–3 Tage nach der Infektion ihren Höhepunkt. Virus wird in der Regel 7 Tage lang ausgeschieden, bei Erstinfektionen im Kindesalter auch über 2 Wochen hinweg. Nach einer Inkubationszeit von 1–5 Tagen stellen sich akute respiratorische Krankheitssymptome mit Kopfschmerz, Schnupfen und Husten ein, denen hohes Fieber, Muskelschmerz, Appetitlosigkeit und allgemeines Schwächegefühl folgen. Schwerere Verlaufsformen zeichnen sich häufig durch eine primäre **Influenzapneumonie** oder durch eine kombinierte bakterielle Pneumonie (s.o.) aus.

Besonders gefährdet sind Personen ab dem 65. Lebensjahr, sowie Patienten mit Herz-/ Kreislauferkrankungen, Stoffwechselstörungen oder einer Immunsuppression. Man darf davon ausgehen, daß in Deutschland jährlich mehrere tausend zumeist ältere Menschen einer Influenzapneu-


Elternviren
doppelt infizierte Wirtszelle
eine der $2^8 - 2 = 254$ verschiedenen möglichen Nachkommen

Tab. 6.14 Hämagglutinin- und Neuraminidase-Subtypen von Influenza A-Viren bei Mensch und Tier

Subtyp Hämagglutinin	Mensch	Schwein	Pferd	Wal	Seehund	Nerz	Vögel
H1	+	+		+			+
H2	+						+
H3	+	+	+				+
H4					+		+
H5							+
H6							+
H7			+		+		+
H8							+
H9							+


B

traumatisch geschädigtes Gewebe, wo zunächst die primäre Virusvermehrung in Myozyten stattfindet. Das Virus kann über mehrere Tage in der quergestreiften Muskulatur verbleiben, bevor es über die motorischen Endplatten in das periphere Nervensystem gelangt.

Aus diesem Grund wird empfohlen, die Hälfte des für die passive Immunisierung verwendeten Immunglobulins um die Wunde zu instillieren.

Die zentripetale Ausbreitung des Virus in peripheren Nerven erfolgt passiv durch den retrograden Axoplasmastrom, bis das Zentralnervensystem erreicht wird; hier repliziert das Virus u.a. im limbischen System und im Neokortex. Es entwickelt sich eine ausgedehnte Enzephalitis. Anschließend kommt es zu einer zentrifugalen Virusausbreitung, wiederum auf dem axoplasmatischen Weg, mit folgender Vermehrung des Tollwutvirus u.a. in Epithelzellen der Speicheldrüsen. Die Replikation des Virus im limbischen System führt zu Verhaltensänderungen wie Angrifflust und Beißsucht. Im Verlauf der Infektion des Neokortex kommt es zu einem dumpfen Verhalten mit Lähmungserscheinungen.
Nach Infektion eines Säugetieres hält sich das Virus über einen längeren Zeitraum insbesondere in Nervenzellen auf und repliziert zunächst kaum. Erst in einer späten Phase nach der Infektion werden große Virusmengen freigesetzt, wobei eine extraneurale Vermehrung des Tollwutvirus insbesondere in Epithelzellen der Speicheldrüsen stattfindet. Erst dann lassen sich

ersten etwa 2–5 Tage dauernden Phase kommt es zu wenig charakteristischen Veränderungen wie Juckreiz, Schmerzen an der Bißstelle, Kopfschmerzen, Erbrechen, starkem Speichelfluß und mitunter Fieber. Das anschließende Exzitationsstadium dauert 2–7 Tage und ist gekennzeichnet durch neurologische Symptome, die generalisierte Krämpfe und Muskelspasmen im Pharynx/Larynx-Bereich einschließen. Diese Symptome können durch den Anblick von Wasser **(Hydrophobie)** oder durch grelles Licht **(Photophobie)** induziert werden. Der Tod kann bereits während des Exzitationsstadiums eintreten oder im Verlauf des folgenden paralytischen Stadiums. Das letztere Stadium kann 3–4 Tage andauern; es kommt zu Lähmungen und schließlich zum Atemstillstand.

Nach dem Auftreten von Krankheitssymptomen bzw. nach der Diagnosestellung aufgrund von Laboruntersuchungen ist die Prognose infaust.

Es gibt nur einzelne dokumentierte Fälle von Patienten, die eine Erkrankung überlebt haben. Die klinische Diagnose der Tollwut bereitet bei Mensch und Tier erhebliche Schwierigkeiten. So kann das recht charakteristische Exzitationsstadium fehlen; in solchen Fällen wird die Bezeichnung „stille Wut" verwendet. Die klinischen Anzeichen der Erkrankung können insgesamt wenig ausgeprägt sein.

Laboratoriumsdiagnose

Eine gründliche **Anamnese** kann den Verdacht

spielt bei der Diagnose eine untergeordnete Rolle, insbesondere weil Antikörper erst spät im Krankheitsverlauf auftreten. Der Neutralisationstest wird eingesetzt, um den Impferfolg nachzuweisen, in der Veterinärmedizin insbesondere im Zusammenhang mit der Einfuhr von Hunden und Katzen in tollwutfreie Länder. Meist wird ein FAVN (fluorescent antibody virus neutralization) Test eingesetzt, wobei nicht neutralisiertes Virus mittels direkter Immunfluoreszenz nachgewiesen wird. Bei tollwutverdächtigen Tieren kann mit dem FAVN geprüft werden, ob aufgrund von zurückliegenden Impfungen mit einer Immunität zu rechnen ist. Eine belastbare Immunität liegt vor, wenn die Impfung zu einem bestimmten von der O.I.E. (Office International des Épizooties, Internationales Tierseuchenamt) festgelegten Titer (> 0,5 I.U./ml Serum) geführt hat. Ob nachgewiesene Antikörper auf Impfung oder Feldvirusinfektion zurückzuführen sind, kann bislang nicht unterschieden werden.
Der Nachweis des viralen Genoms bzw. eines Genomstückes mittels reverser Transkription-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) stellt eine wertvolle Ergänzung der diagnostischen Möglichkeiten dar, nicht nur wegen der extrem hohen Sensitivität der Methode, sondern auch in Verbindung mit Nukleinsäuresequenzierung der vorliegenden Tollwutvirus-Spezies.

Epidemiologie und Bekämpfung

Maßnahmen gegen die Tollwut haben dazu geführt, daß die Anzahl der Tollwutfälle insbesondere in Europa stark rückläufig ist. Allerdings ist die Tollwut immer noch weltweit verbreitet. Zu den tollwutfreien Ländern bzw. Kontinenten gehören gegenwärtig u.a. Finnland, Griechenland, Großbritannien, Irland, Norwegen, Schweden, Schweiz sowie Australien, Neuseeland und Japan.
Die Tollwut wird in Europa überwiegend bei

und Pferde. Hundebisse sind in Europa häufigste Infektionsquelle für den Menschen.
In Asien, Lateinamerika und Afrika herrscht die urbane Form der Tollwut (Haustiertollwut) vor, bei der streunende Hunde eine besonders wichtige Rolle spielen. In Nord- und Südamerika hat die Übertragung durch blutleckende Fledermäuse (Südamerika) sowie fruchtfressende Fledermäuse (Nordamerika) erhebliche Bedeutung.
Jedes Jahr werden der WHO zahlreiche tödlich endende Tollwutfälle beim Menschen gemeldet. So sind allein in Indien im Jahr 1992 etwa 30 000 Menschen an Tollwut erkrankt. Hingegen ist in Deutschland in den letzten zehn Jahren nur ein Tollwutfall beim Menschen aufgetreten, der über Labordiagnose bestätigt wurde.

Prophylaxe

Erste Versuche über die Wirksamkeit der Tollwutschutzimpfung wurden 1885 unter Leitung von Louis Pasteur durchgeführt. Hierbei erfolgte die Impfung mit einem Virus, das mittels intrazerebraler Inokulation in Kaninchen passagiert wurde und dadurch attenuiert werden konnte.
Die folgende Beschreibung von Impfstoffen und Vorgehensweisen gilt, soweit nicht anders angegeben, für die Bundesrepublik Deutschland. Die Impfstoffe zur Anwendung bei Mensch und Haustieren enthalten inaktiviertes Tollwutwirus („klassisches“ Tollwutvirus, Serotyp 1), das in Zellkulturen vermehrt wurde. Zur Passagierung des Virus stehen Zellen aus zwei Spezies zur Verfügung; nämlich Zellen vom Menschen (human diploid cells, HDC) und Hühnerzellen (primary chicken embryo fibroblasts, CEF). Die unter Einsatz dieser Zellen gewonnenen Impfstoffe sind besser verträglich als die früher gebräuchlichen Impfstoffe, die aus Entenembryonen oder gar Gehirnmaterial gewonnen wurden.
Die Impfung gegen Tollwut gilt als sicher und wirksam. Die Immunisierung des Menschen

diesem Grund unterliegen die Arbeiten mit den beiden letzteren Viren strengeren Sicherheitsmaßnahmen.
Bei der Impfung des Menschen gegen Tollwut wird unterschieden zwischen Vakzination *vor* und *nach* Exposition. Die Impfung vor einer möglichen Infektion mit dem Tollwutvirus betrifft vor allem Risikogruppen, z.B. Tierärzte, Tierpfleger, Jäger und Personal in Tollwutlaboratorien. Hierbei wird der Impfstoff zunächst viermal appliziert und zwar an den Tagen 0, 7, 21 und nach einem Jahr. Die Kontrolle des Impferfolges bzw. die Notwendigkeit einer Nachimpfung kann auch hier mittels Bestimmung der neutralisierenden Antikörper im Serum erfolgen, wobei wiederum der Wert von 0,5 I.U./ml nicht unterschritten werden sollte (Tab. 6.16).
Eine andere Vorgehensweise ist angezeigt, wenn ein Mensch von einem tollwutverdächtigen oder sicher tollwütigen Tier gebissen wurde bzw. mit einem solchen Tier Kontakt hatte. Hierfür wurde ein Indikationsschema erstellt (Tab. 6.17). Neben der aktiven Immunisierung an den Tagen 0, 3, 7, 14 und 28 werden zusätzlich mit der ersten Impfstoffdosis humane Immunglobuline gegen Tollwutvirus verabreicht. Bei dieser Simultanprophylaxe soll etwa die Hälfte der Immunglobulinpräparation um die Wunde herum appliziert werden (s.o. Pathogenese). Bei einer postexpositionellen Tollwutschutzimpfung wird auch berücksichtigt, ob betroffene Personen vor der Exposition bereits geimpft wurden (Tab. 6.17).

In jedem Fall ist bei Tollwutverdacht auch der zuständige Amtstierarzt hinzuziehen, da es sich nach dem Tierseuchengesetz um eine anzeigepflichtige Krankheit handelt.

Der Tollwutverdacht sollte durch weitere Maßnahmen abgeklärt werden, beim lebenden Tier u.a. Kontrolle des Impfpasses, Untersuchung auf neutralisierende Antikörper; beim toten Tier Untersuchung auf Tollwutvirus.
Die Bekämpfung der Wildtiertollwut erfolgt insbesondere durch orale Immunisierung mit Ködern. In der Bundesrepublik Deutschland wird hierfür ausschließlich attenuiertes Tollwutvirus verwendet, während in anderen Ländern auch rekombinantes Vaccinia Virus eingesetzt wird, welches das Hüllprotein G des Tollwutvirus exprimiert. Die in den letzten 20 Jahren erzielten Erfolge bei der Bekämpfung der Wildtiertollwut sind insbesondere in Europa beeindruckend.

Tab. 6.16 Impfung gegen Tollwut

Tollwut	I	präexpositionell: Tierärzte, Jäger, Forstpersonal, Personen bei Umgang mit Wildtieren und ähnliche Risikogruppen; Personal in Laboratorien mit Tollwutrisiko	Dosierungsschema nach Angaben des Herstellers; i.allg. Intramuskuläre Impfung (M. deltoides, bei jungen Kindern anterolaterale Zone des Oberschenkels, nicht intragluteal) an den Tagen 0, 7, 21; nach 1 Jahr Personen mit weiterbestehendem Expositionsrisiko sollten jährlich auf neutralisierende Antikörper untersucht werden. Eine Auffrischimpfung ist bei < 0,5 IE/ml Serum indiziert. Mit Tollwutvirus arbeitendes Laborpersonal sollte halbjährlich auf neutralisierende Antikörper untersucht werden. Eine Auffrischimpfung ist bei < 0,5 IE/ml Serum indiziert.
	R	Reisende in Gefährdungsgebiete	
		postexpositionell: bei Exposition durch ein tollwütiges oder tollwutverdächtiges Tier; ggf. nach Exposition mit einem Impfstoffköder (Tollwutlebendimpfstoff für Füchse)	s. Tab. 6.17

I = Indikationsimpfung bei erhöhter Gefährdung von Personen und Angehörigen von Risikogruppen
R = Reiseimpfungen (von WHO veröffentlichte Informationen über Infektionsgebiete beachten)

6



Abb. 6.33 Struktur der Filoviren. (a) Knospung von Marburgvirus-Partikeln an der Oberfläche einer menschlichen Endothelzelle (Pfeilspitzen). Die Partikel bestehen aus einem Nukleokapsid, das von der Virushülle mit den Spikes (Pfeile) umgeben ist. Das Nukleokapsid enthält einen Zentralkanal (Einschub). Längenmarker 0,5 µm, Einschub 50 nm. (b) Schematischer Aufbau eines Virus mit den einzelnen Virusbestandteilen. Erklärung im Text. (c) Genomstruktur der Filoviren (aus KLENK, 1998).

le des lymphatischen Systems betroffen sind. Charakteristisch sind fokale Lebernekrosen mit geringen Entzündungszeichen sowie follikuläre Nekrosen in Lymphknoten und Milz. Jedoch ist keines dieser Organe in der Regel so stark geschädigt, daß damit ein tödlicher Ausgang der Erkrankung erklärt werden könnte. Von entscheidender Bedeutung scheint hierfür vielmehr eine generalisierte Instabilität und Dysfunktion

Klinik

Marburgvirus- und Ebolavirusinfektionen des Menschen ähneln sich in ihrer klinischen Symptomatik. Nach 4–16-tägiger Inkubationszeit kommt es zum plötzlichen Auftreten der Krankheitserscheinungen mit Fieber, Schüttelfrost, Kopf-, Muskel- und Gelenkschmerzen, sowie Übelkeit, Erbrechen, Durchfall und schweren

Laboratorien durchgeführt werden (in der Bundesrepublik Deutschland am Tropeninstitut Hamburg und am Institut für Virologie der Philipps-Universität Marburg). Als Untersuchungsmaterial eignen sich Blut sowie bioptisch und autoptisch entnommenes Gewebe. Virales Antigen ist im Blut zwischen dem 3. und 16. Tag nach Beginn der klinischen Symptomatik nachweisbar. IgM-Antikörper sind frühestens am Ende der 1. Krankheitswoche und mindestens bis zum 30. Tag nach Beginn der klinischen Symptomatik nachweisbar. IgG-Antikörper treten zwischen dem 6. und 18. Tag nach Beginn der klinischen Symptomatik auf und persistieren für viele Jahre. Auf Grund der starken Virämie ist die **Virusisolierung** in der Zellkultur (Verozellen) oder im Versuchstier (Meerschweinchen) ein probates diagnostisches Mittel, das immer angewendet werden sollte. Die Verfahren der Wahl bei der Akutdiagnostik sind **Antigen-ELISA** und **PCR.** Diese Verfahren ermöglichen den Nachweis von viralem Antigen oder RNA im Blut und Gewebe und sind vergleichbar in Spezifität, Sensitivität und Handhabbarkeit. Der Antigen-ELISA beruht auf dem antigen-capture-Prinzip, wobei mittels substratfixierter monoklonaler Antikörper virales Antigen abgefangen wird. Weitere Verfahren zum Schnellnachweis von Viruspartikeln und viralem Antigen sind Elektronenmikroskopie und Immunfluoreszenz. Beide Verfahren zeichnen sich durch geringere Sensitivität aus und hängen in ihrer Zuverlässigkeit sehr von der Erfahrung des Untersuchers ab. Verfahren der Wahl zum Antikörpernachweis ist der ELISA. Ein vierfacher Anstieg des IgG-Titers oder der Nachweis von spezifischem IgM gelten als notwendige und hinreichende Bedingungen für ein positives Testergebnis.

Therapie

Filovirusinfektionen haben sich bislang der Bekämpfung durch Immunprophylaxe oder spezifische therapeutische Maßnahmen entzogen. Eine fachgerechte Expositionsprophylaxe beim Umgang mit Patienten bietet hinreichenden Schutz vor der Ansteckung von Pflegepersonal und vor nosokomialer Infektionsausbreitung.

Epidemiologie

Filovirusinfektionen sind zoonotischer Natur. Das Erregerreservoir ist jedoch nicht bekannt. Affen sind wie der Mensch offenbar nur akzidentelle Wirte. Die humanpathogenen Marburg- und Ebolaviren sind in den tropischen Regenwaldzonen Zentralafrikas endemisch. Die Übertragung der Erreger erfolgt überwiegend parenteral durch engen physischen Kontakt mit Infizierten und deren Körpersekreten. Blut und Organe von Erkrankten und Verstorbenen sind hoch infektiös. Die aerogene Übertragung ist unter experimentellen Bedingungen möglich, scheint jedoch epidemiologisch keine Bedeutung zu haben.

Meldepflicht besteht für Erkrankungsverdacht, Erkrankung sowie den Tod; außerdem für den direkten oder indirekten Nachweis von Marburg- und Ebolavirus.

Literatur:

FELDMANN, H.and H.-D. KLENK: Marburg and Ebola Viruses. Adv. Virus Research 47 (1996) 1–52.

KLENK, H.-D. (Ed.): Marburg and Ebola Viruses. Current Topics Microbiol. Immunol. Vol.235 (1998).

MARTINI, G.A. and R. SIEGERT (Eds.): Marburg Virus Disease. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1971.

PATTYN, E.R. (Ed.): Ebola Virus Hemorrhagic Fever. Elsevier/North–Holland, Amsterdam, 1978.

PETERS, C.J., A. SANCHEZ, P.E. ROLLIN, T.G. KSIAZEK, and F.A. MURPHY: Filoviridae. In:Fields Virology (Eds.:B. N. FIELDS, D. M. KNIPE, and. P. M. HOWLEY), 3rd Edit., 1161–1176, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996.

6.19 Arenaviren

HERBERT SCHMITZ

Es handelt sich um RNA-haltige Viren, die chronisch-persistierende Infektionen bei unterschiedlichen Nagern hervorrufen. Durch **Ansteckung nach Kontakt mit Nagerausscheidungen** kommt es zu akzidentellen Infektionen beim Menschen. Diese können weitgehend harmlos verlaufen wie beim Virus der Lymphozytären Choriomeningitis oder lebensbedrohlich wie beim Lassa-Virus.

Eigenschaften der Erreger

Die wichtigsten humanpathogenen Vertreter der Familie Arenaviren sind in Tabelle 6.18 zusammengestellt.

6

aufgenommene Dosis für die Krankheitsentwicklung eine Rolle spielen. Gelegentlich wird auch über eine Chorioretinitis und Hydrozephalus nach **Infektion in der Schwangerschaft** berichtet (G. ENDERS).

Alle anderen hier aufgelisteten Arenaviren führen bei Infektion des Menschen zu einem grippeartigen Fieber, das in 10–50% der Fälle (je nach Erreger) in ein schweres hämorrhagisches Fieber mit Multiorganversagen übergehen kann. Beim **Lassa-Fieber** kommt es nach Ansteckung durch den Nager nach einer Inkubationszeit von ca. 1–2 Wochen zu einem grippeartigen Krankheitsbild mit hohem Fieber, Kopfschmerzen, Pharyngitis mit weißlichen Flecken auf den Tonsillen, gastrointestinalen Symptomen. Gegen Ende der ersten Krankheitswoche können sich Organmanifestationen (Myokard, Lunge, Niere) entwickeln. Oft bildet sich ein Ödem im Gesicht und in der Halsregion aus; auch kommt es zu Ateminsuffizienz. Fast immer besteht eine Hepatitis mit pathologischen Leberwerten. Je höher diese sind, desto schlechter ist die Prognose. Auch eine Enzephalopathie kann vorkommen. In schweren Fällen kann sich ein **hämorrhagisches Fieber** mit Blutungsneigung (petechiale Blutungen in die Haut, Magen-, Darmblutungen) entwickeln. Die Blutungsneigung ist Malaria, Leptospirose, Typhus, Pest, Meningokokkensepsis und andere bakterielle septische Infektionen (z.B. EHEC) sowie Vergiftungen mit Blutungsneigung in Frage.

Eine sichere Diagnose ist daher nur mit virologischen Methoden möglich. **Antikörper** treten nach der ersten Krankheitswoche auf. Für alle Arenaviren können diese mit der Immunfluoreszenz bestimmt werden. Das Lassa-Virus-Nukleokapsid wurde gentechnisch in *E. coli* exprimiert. Dieses Antigen kann mit hoher Empfindlichkeit in einem Dotblot-Verfahren verwendet werden, um IgG- und IgM-Antikörper nachzuweisen.

Die **Virusanzucht** aller Arenaviren gelingt aus Blut und Urin bei schneller Verarbeitung des Materials mit hoher Zuverlässigkeit. Allerdings vergehen 2–6 Tage, bis die Virusreplikation in der Gewebekultur (Verozellen) mit spezifischen Antikörpern (da nichtzydozidale Vermehrung) nachgewiesen werden kann.

Wesentlich schnellere Resultate erhält man aus dem gleichen Material (Plasma oder Serum, aber auch Urin) mit der **RT-PCR.** In **frühen Stadien** der Erkrankung (1–2 Tage nach Fieberanstieg) ließ sich bereits die Lassa-Virus-RNA im Blutplasma von Patienten in Guinea und Liberia nachweisen. Unterschiedliche Lassa-Virusstäm-

genen Infektionen erfordern Isolierungsmaßnahmen jedmöglicher Art. Bett- und Transportisolatoren können z.B. eine effektive biologische Barriere zwischen Patient und medizinischem Personal aufbauen. Selbst die einfachen Methoden des „barrier nursing", d.h. die Verwendung von Einwegschutzkleidung und Gesichtsmasken, bieten bereits einen hohen Schutz. Die Patienten sollten – wo möglich – chemische Toiletten benutzen.

Beim Lassa-Fieber-Patienten kann mit Ribavirin (Virazol®, inital 30 mg/kg) die Vermehrung des Lassa-Virus bei frühzeitigem Therapiebeginn deutlich reduziert werden.

Dann liegt die Mortalität auch bei schweren Fällen nur noch bei 1%. Beim Argentinischen Hämorrhagischen Fieber hat sich Immunplasma bewährt.

Epidemiologie und Bekämpfung

In epidemiologischen Studien konnte gezeigt werden, daß das größte Risiko beim Lassa-Virus der Kontakt der afrikanischen Bevölkerung mit dem Blut der Nager (Rattenzubereitung als Proteinquelle) darstellt. Wahrscheinlich kommt es aber auch zu einer Infektion des Menschen durch Kontakt mit Nagetierexkrementen. In Endemiegebieten weisen bis zu 50% der Untersuchten Antikörper auf. Die Seroprävalenz ist eng an das Vorkommen infizierter Nager gebunden. Reinfektionen sind wohl ziemlich häufig, zeigen aber keine klinische Symptomatik. Neuere Schätzungen gehen beim Lassa-Fieber von 100 000 Erkrankungen mit ca. 5000 Todesfällen pro Jahr aus.
Das Argentinische Hämorrhagiche Fieber wird seit 1958 nur in Argentinien, hauptsächlich bei Landarbeitern, diagnostiziert (Erntefieber). Insgesamt gilt ein Gebiet von 100 000 km^2 mit einer Bevölkerung von mehr als 1 Million Menschen als endemisch. Nur etwa 4–6% der Landbevölkerung hat Antikörper gegen das Junin-Virus.
Das Vorkommen von Arenavirus-Infektionen kann durch eine konsequente Bekämpfung der Nager gesenkt werden. Die Bevölkerung endemischer Gebiete sollte angehalten werden, Nahrungsmittel vor Nagern sicher zu verwahren.
Ein attenuierter **Impfstoff** steht bislang nur für das Argentinische Hämorrhagische Fieber zur Verfügung. Beim Lassa-Virus ließen Rekombinationsimpfstoffe bei tierexperimentellen Prüfungen eine Schutzwirkung erkennen. Prophylaktische Gaben von Ribavirin für besonders exponierte Personen werden beim Lassa-Virus empfohlen (600 mg oral alle 6 Stunden über 7 Tage).

Das Lassa-Virus kann wie auch die anderen hämorrhagisches Fieber verursachenden Arenaviren von Mensch zu Mensch durch Blutkontakt, vor allem bei der Krankenpflege, weitergegeben werden.

Meldepflicht besteht bei virusbedingten hämorrhagischen Fiebern bei Erkrankungsverdacht, Erkrankung sowie Tod und für den direkten oder indirekten Nachweis von Lassa-Virus und anderen Erregern hämorrhagischer Fieber.

Literatur

Salvato, M.: The Arenaviruses, Plenum Press, New York 1993.
Bishop, D. H. L. and J. B. Mc Cormick, Arenaviridae. In: Fields: Virology, (Eds. Fields, B. N., D. M. Knipe, and P. M. Howley) 3rd ed., Lippincott-Raven Publ., Philadelphia 1996.
Enders, G.: Viral Infections of the Fetus and Neonate, other than Rubella. In: (Eds. Collier, L., A. Balows, and M. Sussman) Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 9th ed., Arnold Publ., London 1998, 873–915.

6.20 Retroviren

Volker Erfle

Retroviren finden sich bei vielen Tierarten, von den Säugetieren bis zu den Reptilien. Auch der Mensch ist Wirt verschiedener Retroviren. Meist führt die Infektion mit den Vertretern dieser Virusgruppe zur Viruspersistenz, die oft erst nach Jahren Krankheitserscheinungen zur Folge hat. Häufig sind Retroviren Ursache von Tumor-Erkrankungen, die wie bei der Leukose der Rinder erhebliche wirtschaftliche Bedeutung haben können. Trotz ihrer weiten Existenz im Tierreich ist die Verbreitung einzelner Vertreter meist begrenzt, und es bedarf häufig besonderer Bedingungen, um eine hohe Infektionsrate zu erreichen. Das Auftauchen des humanen Immundefizienzvirus (**HIV**, s. Kap. 11.11) beim Menschen und seine weltweite Verbreitung durch Blutprodukte, intravenösen Drogengebrauch

und durch Sextourismus ist hierfür ein typisches Beispiel.
Die häufige Verbindung von Retrovirusinfektionen mit Tumorerkrankungen machte diese Viren für lange Zeit zu einem beliebten Objekt der Tumorforschung. Die Entdeckung grundlegen-

Effekte in vitro klassifiziert. Auf dieser Grundlage wurden früher drei Subfamilien definiert, Onko-, Lenti- und Spumavirinae (s. Abb. 11.8). Die **Onkoviren** schlossen eine Reihe unterschiedlicher Tumorviren wie das T-Zell-Leukämievirus (HTLV-1) oder das bovine Leukämie-



Abb. 6.34 Schema eines HIV-Virions als Beispiel für den Aufbau eines Retroviruspartikels:
Genom mit Replikationsenzymen (RT, IN, PR) und Nukleoprotein (NC) in einem Kapsid (CA); zwischen Hülle (Env) und Kapsid die Matrix (MA) aus viruskodiertem Protein. Die aus der Zellmembran der infizierten Zelle stammende Hülle kann zelluläre Proteine, z.B. HLA enthalten und trägt zwei virale Glykoproteine (TM, SU). Das Oberflächenprotein SU dient der Anheftung an Wirtszellen.

stellt: Die Partikel mit einem Durchmesser von 80 bis 130 nm bestehen aus einem inneren ikosaedrischen Kapsid und einer Lipidhülle, in die die sogenannten Hüllproteine integriert sind. Das **Kapsid** (CA) schließt das virale Genom in Form von zwei identischen RNA-Molekülen, wenige Moleküle tRNA und wichtige virale Enzyme wie die Reverse Transkriptase (RT) und die Integrase (IN) ein. Die RNA hat eine Größe von ca 7000 bis 11 000 Nukleotiden und ist im Viruspartikel an ein Nukleoprotein (NC) gebunden. Das Kapsid wird von einem Protein geformt, das von einer viruskodierten Protease (PR) aus einem Vorläuferprotein spezifisch prozessiert wird. Die **Virushülle** entsteht bei allen Retroviren bei der Freisetzung aus der Wirtszelle durch Knospung (Budding, s. Abb. 11.9). Sie enthält daher verschiedene zelltypische Proteine, z.B. HLA. Zudem werden zwei Virusproteine, das Transmembranprotein (TM) und ein glykosyliertes Oberflächenprotein (SU) in dieser Membran verankert. Ein weiteres Virusprotein, das Matrixprotein (MA), stellt eine Verbindung zwischen dem Kapsid und der Virushülle her.
Morphologisch unterscheiden sich die einzelnen Retrovirusarten in dem für sie typischen Kapsidprotein. Die besondere Morphologie des Kapsids war auch Basis für die taxonomische Einteilung. Einzelne Vertreter der Familie bilden charakteristische intrazelluläre Partikelstrukturen aus, wie z.B. das endoplasmatische A-Typ-Partikel des Mammatumorvirus der Mäuse (s. Abb. 11.8).
Das **Genom** von Retroviren kann als RNA im Viruspartikel bzw. auch als DNA in das Genom der Wirtszelle integriert (= Provirus) vorliegen. Es kodiert für die Strukturproteine (Kapsid, Matrix, Hülle), für wichtige Enzyme (Reverse Transkriptase, Protease, Integrase) und, wie bei den Lentiviren, auch für regulatorische und akzessorische Proteine. In dem besonderen Fall der defekten Onkoviren können auch zelluläre Sequenzen und Gene Bestandteile des retroviralen Genoms sein. Die einzelnen Virusgene liegen, vom 5'- zum 3'-Ende gesehen, in folgender Reihenfolge vor:

- Nukleokapsidproteine (*gag*-Region)
- Protease
- Reverse Transkriptase } (alle *pol*-Region)
- Ribonuklease H } (alle *pol*-Region)
- Integrase } (alle *pol*-Region)
- Hüllproteine (*env*-Region).

Bei den T-Zell-Leukämieviren (z.B. HTLV-1) und Lentiviren (z.B. HIV-1) kommen regulatorische Proteine hinzu, die über alternatives RNA-Spleißen kodiert werden. In der DNA-Form als Provirus werden die kodierenden Sequenzen des retroviralen Genoms von zwei identischen LTR-Regionen (Long Terminal Repeat) eingerahmt, die Signalsequenzen für die Initiation und Termination der Transkription sowie „Enhancer" enthalten (Abb. 6.35). Im Viruspartikel hat das RNA-Genom die Struktur einer Boten-RNA mit einem 5'-Cap und einem PolyA-Teil.

6.20.3 Virusvermehrung

Die Infektion einer Wirtszelle beginnt mit der **Anheftung** des Viruspartikels mit seinem Ober-

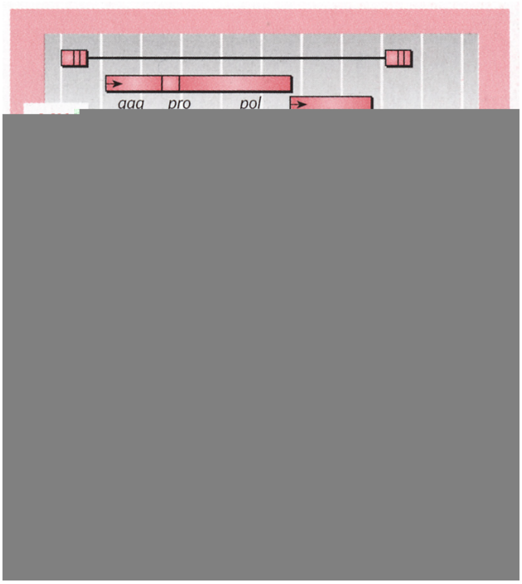


Abb. 6.35 Kodierende Abschnitte des Maus-Leukämievirus (MLV), des Humanen T Zell-Leukämievirus (HTLV) und des Humanen Immundefizienzvirus Typ 1 (HIV-1). Die Genome sind als integrierte Proviren dargestellt. Die Pfeile zeigen Initiationsorte der Translation an. Spleißprozesse sind durch gestrichelte Linien gekennzeichnet.

flächenprotein an einen spezifischen Rezeptor der Zellmembran (Abb. 6.36). Für das HIV ist dies beispielsweise das CD4-Molekül, murine Leukämieviren benutzen u.a. Membrantransporterproteine für Aminosäuren. Dieser erste Kontakt initiiert eine Folge von Konformationsänderungen der viralen Hüllproteine, an deren Ende die Freisetzung eines sogenannten fusogenen Abschnitts des Transmembranproteins steht. Dieses wird in die Zellmembran integriert und ist letztlich für die Verschmelzung der Virushülle mit der Zellmembran verantwortlich. Hierbei müssen bei HIV auch noch weitere Rezeptoren, wie Chemokinrezeptoren, benutzt werden. Die Membranfusion entläßt das Nukleokapsid in die Zelle, wo in der Folge ein für die Retroviren typischer Prozeß beginnt:

- **Umschreibung** der viralen RNA in eine DNA-Kopie: Die im Viruspartikel mitgeführte Reverse Transkriptase kopiert mit Hilfe von zellulären tRNA-Spezies als Primern die genomische Virus-RNA in eine DNA um
- **Abbau** des RNA-DNA-Hybrids durch die virale Ribonuklease H zu einem DNA-Einzelstrang
- **Synthese** eines komplementären DNA-Stranges durch die Reverse Transkriptase
- Diese doppelsträngige virale DNA wird in den Zellkern transportiert
- **Einbau** der viralen DNA in die DNA der Wirtszelle durch die virale Integrase über eine kovalente Bindung.

In dieser Form kann das Virus als sogen. Provirus für immer persistieren. Das ist der Grund, warum es praktisch unmöglich sein wird, einen Organismus jemals wieder von einer Retrovirusinfektion zu befreien.

Das Provirus kann transkriptionell inaktiv sein. Nach Zellaktivierung kommt es durch zelluläre Faktoren zur Transkription einzelner viraler RNA-Spezies, die als Vorlage für die viralen Proteine dienen, und die auch die zukünftigen genomischen Moleküle darstellen. Bei den Lentiviren und der HTLV-Gruppe erscheinen als erste Virusproteine essentielle regulatorische Proteine, die einerseits die Transkription erheblich verstärken (Tat, Tax), und die die mRNA für die Strukturproteine aus dem Zellkern transportieren müssen (Rev, Rex). Diese werden von alternativ gespleißten RNA-Spezies translatiert. Die übrigen Virusproteine werden aus Vorläuferproteinen produziert, von denen einige durch die virusspezifische Protease prozessiert werden müssen (s. Abb. 11.11). Nach Translation werden die Proteine zum Teil modifiziert (myristyliert [Matrix]; glykosyliert [Hülle]), an die Zellmembran transportiert und in die Membran integriert (Hüllproteine). Die Nukleoproteine beginnen zu kondensieren, binden einzelne Moleküle der genomischen RNA und werden über einen Knospungsprozeß unter Mitnahme hüllproteinhaltiger Zellmembran als noch unreife Partikel von der Zelle freigesetzt (s.a. Abb. 11.9). Die endgültige Reifung des Kapsids erfolgt nach Freisetzung unter Aktivität der viralen Protease. Das immer detailliertere Wissen über die einzelnen Schritte der Vermehrung von Retroviren, insbesondere von HIV, hat zur Entwicklung wirksamer antiretroviraler Substanzen geführt. Im Vordergrund steht die Hemmung des virusspezifischen Enzyms Reverse Transkriptase (RT- Hemmer, Nukleosidanaloge), der Protease (Proteinaseinhibitoren), aber auch der Integrase. Auch der Anheftungsprozeß und die Fusion beim Eintritt des Retrovirus in die Zelle ist Ziel für interessante Interventionsstrategien (Chemokinanaloge), wie auch die Kenntnis der Wirkung der regulatorischen Proteine zu wichtigen gentherapeutischen Ansätzen geführt hat (Antisense, „Decoy“).

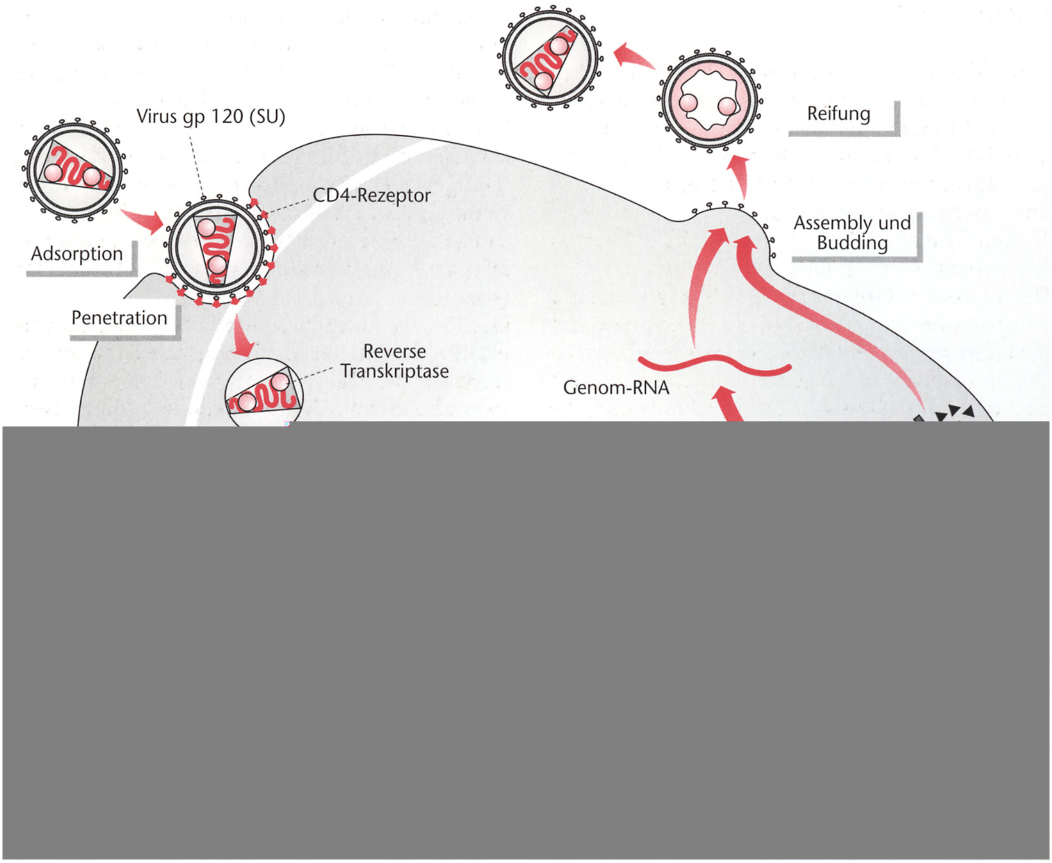


Abb. 6.36 Schema der HIV-Replikation.

6.20.4 Epidemiologie

Die **horizontale Übertragung** vom infizierten Individuum zu einem neuen Wirt geschieht bei Retroviren praktisch ausschließlich durch Körperflüssigkeiten wie Blut, Sperma und seröse Sekrete. Die Übertragung durch Schmutz- und Schmierinfektion ist extrem selten, die aerogene Übertragung ist praktisch ausgeschlossen. Ein Grund hierfür ist die große Labilität der Retro-

Die **vertikale Übertragung** von der Mutter zum Nachwuchs während der Geburt oder über die Muttermilch ist ebenfalls eine Infektionsmöglichkeit. Eine für die endogenen Retroviren besondere Form der vertikalen Übertragung ist die Weitergabe der viralen genetischen Information als Provirus in den Keimzellen nach MENDELschen Gesetzen von einer Generation zur anderen. Eine horizontale Verbreitung von endogenen Retroviren, z.B. bei Mäusen, wurde bisher

Das infektiöse Agens wird als Prion bezeichnet

PrP^{Sc} bindet, kann derzeit jedoch nicht ausge-

6

skopisch erkennbare PrP^{Sc}-haltige Ablagerungen im Hirngewebe, die von kleinen Vakuolen umgeben sind. Für den PrP^{Sc}-Nachweis im Western blot macht man sich dessen relative Resistenz gegen Behandlung mit Protease K zu-

Prionproteingens bedingt; dies trifft auch für das GERSTMANN-STRÄUSSLER-SCHEINKER Syndrom (GSS) und die Tödliche Familiäre Insomnie (FFI) zu. Für das medizinische Personal läßt sich ein erhöhtes Erkrankungsrisiko nicht zeigen.

auch kleiner pathologischer Institute unproblematisch durchführen. Eine hohe Sektionsrate bei klinischem Verdacht auf Vorliegen einer Prionerkrankung ist die Voraussetzung für das frühzeitige Erkennen möglicher neuer Formen der Prionerkrankungen.

Literatur

BRUCE, M.E., R. G. WILL, J. W. IRONSIDE, I. MCCONNELL, D. DRUMMOND, A. SUTTIE, L. MCCARDIE, A. CHREE, J. HOPE, C. BIRKETT, S. COUSENS, H. FRASER, and C. J. Bostock: Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. Nature 389 (1997) 489–501.

EIGEN, M.: Prionics or the kinetic basis of prion diseases. Biophysical Chemistry 63 (1996) A1–A18.

KRETZSCHMAR, H. A., J. W. IRONSIDE, S. J. DEARMOND, and J. TATEISHI: Diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. Arch.Neurol. 53 (1996) 913–920.

PRUSINER, S. B., M. R. SCOTT, S. J. DEARMOND, and F. E. COHEN: Prion Protein Biology – Review. Cell 93 (1998) 337–348.

SCHULZ-SCHAEFFER, W.J., A. GIESE und H. A. KRETZSCHMAR: Creutzfeldt-Jakob-Krankheit – neue Aspekte für die Rechtsmedizin. Rechtsmedizin 8 (1998) 123–129.

ZERR, I., M. BODEMER, O. GEFELLER, M. OTTO, S. POSER, J. WILTFANG, O. WINDL, H. A. KRETZSCHMAR, and T. WEBER: Detection of 14-3-3 protein in the cerebrospinal fluid supports the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Ann.Neurol. 43 (1998) 32–40.

7

Allgemeine Medizinische Mykologie

Renate Blaschke-Hellmessen, Gabriele Schönian

Pilze bilden seit WHITTACKER (1969) ein eigenständiges Naturreich innerhalb der Organismen. Sie zeichnen sich durch eine Vielfalt morphologischer Strukturen und durch ein breites Spektrum von Stoffwechselleistungen aus. Sie leben als **Saprophyten, Symbionten** und **Parasiten** in der Umwelt bzw. bei Mensch, Tier und Pflanze. Ihre Variationsbreite reicht von mikroskopisch kleinen Pilzen bis hin zu Großpilzen.

Die ätiologische Bedeutung der Pilze als **Krankheitserreger** ist seit Mitte des 19. Jahrhunderts bekannt. Von den derzeit eine Million beschriebenen Pilzspezies sind etwa 100 bei der Entstehung humaner und animaler Mykosen beteiligt. Diese haben sich im Laufe der Evolution an den Menschen und an warmblütige Tiere adaptiert und auf diese Weise spezialisiert. Pilze sind an der Mineralisierung organischer Stoffe wesentlich beteiligt. Dabei werden nicht nur natürlich vorkommende organische Substanzen abgebaut, sondern auch vom Menschen geschaffene Produkte, wie Lebensmittel, Textilien, Papier, Leder und Bauwerke, beschädigt und zerstört. Andererseits dürfen die Produkte der Biotechnologie, wie Antibiotika, Enzyme, Vitamine, organische Säuren, Wein, Bier und Sprit sowie die Anwendung von Pilzen in der Lebensmittelindustrie und die Speisepilzproduktion nicht unerwähnt bleiben.

7.1 Zytologie, Morphologie und Fortpflanzung

Pilze gehören, wie Pflanzen und Tiere, zu den **Eukaryoten,** d.h. sie besitzen im Gegensatz zu Bakterien **(Prokaryoten)** einen echten Zellkern, der durch eine Kernmembran vom Zytoplasma abgegrenzt wird (Eukaryoten ist die sprachlich korrekte Form; im Deutschen wird oft auch der Ausdruck Eukaryonten gebraucht).
Pilze sind heterotrophe Organismen. Im Gegensatz zur Pflanzenzelle fehlen ihnen Chromopla-

diomyzeten) umgeben, deren Struktur und Chemismus taxonomisch relevant sind. So bestehen die Gerüstsubstanzen bei Zygomyzeten aus Chitin (polymeres Glucosamin) und Chitosan, bei Deuteromyzeten aus Chitin und Glucan, bei askogenen Hefen aus Mannan, Glucan und Chitin und bei basidiogenen Hefen aus Mannan und Chitin. Die Mannankomplexe sind wegen ihrer antigenen Eigenschaften wichtig. Darüber hinaus sind Proteine und Glykoproteine, gelegentlich auch Zellulose am Aufbau der Zellwand beteiligt. Die **zytoplasmatische Membran** (Zellmembran, Plasmamembran) regelt als semipermeable Biomembran den Stoff- und Informationsaustausch zwischen der Zelle und ihrer Umgebung. Sie besteht hauptsächlich aus Phospholipiden und Glykoproteinen.

In die Plasmamembran der Pilzzellen sind als ein wesentliches Charakteristikum der Eukaryotenzelle Sterolverbindungen, vor allem **Ergosterol,** eingelagert.

Diese fehlen bei den meisten Bakterien. Sie sind Angriffspunkte für Antimykotika, wobei sie Komplexe mit den Sterolen bilden (Polyene) oder den Syntheseweg der Sterole blockieren (Azole) und so die selektive Wirkung dieser Medikamente bewirken.

7.1.2 Morphologie

Daß Pilze höher entwickelt sind als Bakterien, kommt in einer ausgeprägten Differenzierung morphologischer Bauelemente zum Ausdruck. Daraus resultiert eine Arbeitsteilung zwischen vegetativen Strukturen oder Organen, die Ernährung und Wachstum im Nährsubstrat ermöglichen, und reproduktiven Strukturen oder Or-


Gewebeformen
Kulturformen
Dermatophyten
Makro-
konidie
Mikrokonidien

7.6.1 Virulenzfaktoren

Pilze verfügen über unterschiedliche Pathogenitäts- oder Virulenzfaktoren (Tab. 7.4). Sie müssen als Krankheitserreger fähig sein, auf der Haut oder Schleimhaut zu haften **(Adhäsion),** durch Synthese von Enzymen in Haut, Schleimhaut und Gewebe oder in Nagelkeratin einzudringen **(Invasion)** und sich dort zu *vermehren*.

Das Adhäsionsvermögen von Pilzzellen ist eine wesentliche Voraussetzung für die Besiedlung epithelialer Oberflächen des Wirtes und für das Eindringen über die intakte Schleimhaut.

Die Adhärenz wird z.B. durch eine spezifische Interaktion zwischen Mannanproteinen der Hefezelloberfläche und Rezeptoren der Epithelzellen aus Glycoproteinen (Lektinen) bewirkt. Anhaftende Pilzzellen werden durch den Reinigungsmechanismus der Sekrete nur teilweise eliminiert.

7.6.2 Disponierende Faktoren des Wirtes für Mykosen

Die Manifestation von Mykosen ist entscheidend von **Faktoren** abhängig, die die Resistenz des Wirtes mindern. Sie können **exogenen** oder **endogenen Ursprungs** sein, wobei jedoch eine absolute Trennung nicht möglich ist (Tab. 7.5 und Tab. 7.6). Ihre mykosebegünstigende Wirkung beruht primär auf einer Schädigung der Infektabwehr des Patienten einschließlich des Immunsystems. Bei Endomykosen kommt es nicht selten zu einer Häufung prädisponierender Faktoren durch die Grundkrankheit und die gegen sie gerichteten therapeutischen Maßnahmen. Die zahlenmäßige Zunahme von Endomykosen in jüngster Zeit ist auf die breitere Anwendung von Antibiotika und immunsuppressiven Medikamenten, auf eine aggressivere Tumor-Chemotherapie sowie auf die häufigere Anwendung einer parenteralen Ernährung und invasiver chirurgischer Eingriffe zurückzuführen.

Seitens des Wirtes wirken spezifische und unspezifische, hauptsächlich zelluläre Abwehrmechanismen (Phagozytose) gegen eine Pilzinfektion.

Für die Wirtsabwehr gegen opportunistische Pilze, wie *Candida*- und *Aspergillus*-Arten sowie *Mucoraceae*, sind die **zahlenmäßig und funktionell intakten Granulozyten** entscheidend. Mit zunehmender Dauer und Schwere der Granulo-

Tab. 7.5 Disponierende Faktoren für Dermatomykosen (modifiziert nach MALE, 1981)

	Stärkegrad der Disposition gegenüber:		
	Dermatophyten	Hefen	Schimmelpilzen
exogene Faktoren			
Feuchtigkeits- und Wärmestauung (Mazeration der Haut):			
– berufsbedingt (Feuchtarbeit)	+++	+++	
– kleidungsbedingt (Tragen von Gummistiefeln, Kunstfasertextilien, Windelhöschen)	+++	++	
Kontakt mit Chemikalien, dadurch Störung der lokalen Abwehrfunktion der Haut,	(+)	++	
anhaltende Kompression durch Schuhwerk	+++	(+)	+
Verletzungen, Abrasion der Haut (Nagelbett ist besonders disponiert)	+	++	+
Verbrennungen		+	+++
endogene Faktoren			
Defekte der humoralen und zellulären Infektabwehr	++	++	++
Endokrinopathien (Diabetes mellitus u.a.)	+	+++	
Durchblutungsstörungen (Arteriopathien, Minderdurchblutung)	(+)	++	
Störungen der Thermoregulation (Hypothermie der Akren)	+	+	
Lymphopathien, Stase	+++	(+)	
Phlebopathien	+++	(+)	

+ = Stärkegrad der Disposition

Die Mehrzahl der Mykosen tritt sporadisch in Einzelfällen auf. Es kommt aber auch zu Gruppenerkrankungen (z.B. Ausbrüche von Infektionen mit *Microsporum audouinii, Microsporum canis, Epidermophyton floccosum, Candida albicans, Aspergillus fumigatus* und mit der Dimorphen Pilzgruppe) sowie zu endemischer Verbreitung (*Coccidioides immitis* in den Wüstenzonen Amerikas, *Paracoccidioides brasiliensis* in Südamerika, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* im Mississippi-Gebiet, aber auch *Candida albicans* auf Säuglingsstationen, *Aspergillus fumigatus* im Kliniksmilieu, *Trichophyton mentagrophytes* und *Trichophyton verrucosum* in Tierherden). Selten entstehen epidemische Ausbrüche von Mykosen. Bekannt sind Epidemien durch *Histoplasma capsulatum var. capsulatum* bei Beschäftigten in Kellerräumen und bei Höhlenbesuchern sowie durch *Sporothrix schenckii* bei etwa 3000 Bergarbeitern in Südafrika zwischen 1941 und 1944.

Exakte Zahlenangaben über die Häufigkeit von Mykosen stehen nicht zur Verfügung. Fest steht, daß sie als Infektionskrankheiten weltweit verbreitet sind.

7.8 Diagnostik von Pilzinfektionen

moderne bildgebende Verfahren bei Verdacht auf eine Endomykose (z.B. Computertomographie besonders für die Untersuchung von Gehirn, Leber und Milz sowie Magnet-Resonanz-Bilddarstellung) für die Diagnostik hilfreich. Bei Dermatomykosen hat sich seit langem die Untersuchung von Haut- und Kopfhaarbereichen im WOOD-Licht (gefiltertes UV-Licht, Wellenlänge 365 nm) bewährt.

Für die **mykologische Laboratoriumsdiagnostik** stehen mikroskopische, kulturelle und serologische Methoden zur Verfügung:

7.8.1 Direkte mikroskopische Untersuchung

Dieses Verfahren ermöglicht einen raschen Nachweis von Pilzelementen.

Eine Aussage über die Invasivität einer Pilzinfektion ist praktisch nur durch den mikroskopischen Nachweis von Pilzen im Gewebe möglich.

Präparate in Betracht (Färbung nach GRAM oder GIEMSA, Pilzzellen reagieren gram-positiv). Eine *semispezifische Fluoreszensmikroskopie* von Pilzen in jedwedem Untersuchungsmaterial läßt sich durch *Färbung mit optischen Aufhellern* (z.B. Blankophor) und simultaner Mazeration von begleitendem Gewebe mit Kalilauge erzielen. Für den mikroskopisch sichtbaren Nachweis müssen Pilze in Konzentrationen von mindestens 10^3–10^4 pro Gramm bzw. ml Untersuchungsmaterial vorhanden sein.

Anhand des Nachweises von Pilzstrukturen im Primärpräparat kann in den meisten Fällen noch keine endgültige Diagnose des Erregers gestellt werden.

7.8.2 Kulturmethoden

Die kulturelle Anzucht ist die Voraussetzung für die Identifizierung von Pilzen und für eventuell erforderliche Resistenztestungen.

Bei Urin ist eine quantitative Erfassung der Pilze zu empfehlen. Obgleich Pilze in bezug auf das Nährstoffangebot sehr anspruchslos sind, gibt es viele Spezialnährböden, die durch Zugabe von Antibiotika und Einstellung eines sauren pH-Wertes (etwa 5,6) das Wachstum von Begleitbakterien weitgehend unterdrücken und somit selektiv für Pilze wirken. Auf diesen Medien wachsen Sproß- und Schimmelpilze in 1–3 Tagen an, Dermatophyten benötigen meist 2–3 Wochen.

7.8.3 Serodiagnostik von Mykosen

Sie schließt den Nachweis **spezifischer Antikörper** im Serum sowie gelöster freizirkulierender **Pilzantigene** und **Antigen-Antikörper-Komplexe** in Serum, Liquor, Urin und anderen Körperflüssigkeiten ein. Die Serodiagnostik eignet sich als Such- und Ausschlußreaktion, zur Diagnose- und Therapiekontrolle und zur Überwachung von Patienten mit hohem Mykoserisiko mit dem Ziel einer Frühdiagnostik von Endomykosen.

7.9 Antimykotika

Für die **externe Mykosebehandlung** sind Azolpräparate sowie weitere Substanzklassen wie Polyene, Allylamine, Ciclopiroxolamin und Farbstoffe geeignet (Tab. 7.8).
Für die **interne Mykosebehandlung** steht eine begrenzte Anzahl von Antimykotika mit oraler oder parenteraler Applikation zur Verfügung. Dazu gehören Polyene, Azole, fluorierte Pyrimidine, Allylamine und das derzeit nicht mehr zu empfehlende Griseofulvin (Tab. 7.9).

Substanzklasse Polyene

Amphotericin B
Amphotericin B ist ein parenterales Antimykotikum für lebensbedrohende Organmykosen, das durch erhebliche Nebenwirkungen belastet ist (s. Tab. 7.9). Die Substanz wurde 1953 aus *Streptomyces nodosus* isoliert. Es handelt sich um ein amphoteres Heptaen. Zur intravenösen Applikation wird ein Amphotericin B-Natrium-Desoxycholat-Komplex mit Phosphatpuffer wegen der schlechten Wasserlöslichkeit verwendet. Im Liquor werden nur maximal 10% der Serumkonzentration erreicht.

Die Kombination von Amphotericin B mit Flucytosin gilt heute noch als Goldstandard für die Behandlung schwer verlaufender Endomykosen.

Darüber hinaus gibt es eine liposomale Applikationsform, das AmBisome®, bei dem Amphotericin B in Liposomen inkorporiert wird. Hierdurch wird die Toxizität vermindert und die Verträglichkeit verbessert, so daß höhere Dosen verabreicht werden können. Diese Zubereitung wird zur Therapie systemischer Mykosen bei Patienten eingesetzt, die auf konventionelles Amphotericin B nicht ansprechen oder eine Nierenschädigung aufweisen.

Nystatin
Nystatin ist ein nur lokal anwendbares, nicht resorbierbares Antimykotikum gegen Candidamykosen mit geringen Nebenwirkungen. Es wurde 1950 aus *Streptomyces noursei* isoliert. Nystatin ist eine amphoteres Tetraen aus der Gruppe der Polyene, das in Wasser fast unlöslich ist. Hauptanwendungsgebiete sind die Behandlung von Hefemykosen der Haut und Schleimhäute sowie die orale Verabreichung an mykosegefährdete Patienten als prophylaktische Maßnahme zur Verminderung der orointestinalen Pilzbesiedlung.

Tab. 7.8 Antimykotika zur lokalen Anwendung**

Substanzklasse	Wirkstoffe	Wirkungsspektrum D	H	S
Azole	Clotrimazol	+	+	+
	Miconazol	+	+	+
	Ketoconazol	+	+	+
	Econazol	+	+	+
	Bifonazol	+	+	+
	Omoconazol	+	+	+
Allylamine	Naftifin	+	(+)	+
	Terbinafin	+	(+)	+
Polyene	Nystatin	–	+	(+)
	Amphotericin B	–	+	+
	Natamycin	+	+	(+)
Farbstoffe	Brillantgrün	+	+	+
	Kristallviolett	+	+	(+)
andere Verbindungen	Ciclopiroxolamin	+	+	+
	Tolnaftat	–	+	(+)
	Amorolfin	+	+	(+)
	Undecylensäure	+	(+)	–

** Auswahl von Präparaten
D = Dermatophyten, H = Hefen, S = Schimmelpilze

Substanzklasse Fluorierte Pyrimidine

Flucytosin (5-Fluorocytosin)
Flucytosin ist ein Antimykotikum zur systemischen Anwendung bei generalisierten Pilzinfektionen mit relativ guter Verträglichkeit. Es wurde 1970 zunächst als Zytostatikum entwickelt. Flucytosin wirkt bei sensiblen Pilzen als Antimetabolit des Cytosins. Primär resistente Stämme

Tab. 7.9 Antimykotika zur systemischen Anwendung (Auswahl)

Wirkstoff	Wirkungsspektrum	Wirkungsmechanismus	Anwendungsweise	Dosierung	Nebenwirkungen
Amphotericin B (Polyen)	Sproßpilze, Schimmelpilze, Dimorphe Pilzgruppe	Komplexbildung mit Ergosterol, Permeabilitätserhöhung der Pilzzellmembran	i.v., intrathekal, -lumbal, -vesikal, -pleural und -perikardial	0,1 mg/kg/Tag, steigend bis maximal 1 mg/kg/Tag, Gesamtdosis nicht mehr als 3 g	Nephro-, Hepato- und Myelotoxizität, Thrombophlebitis, Hypokaliämie
AmBisome® als liposomales Amphotericin B			bei Ausschluß des konventionellen Amphotericin B	höher bei AmBisome®	deutlich geringer bei AmBisome®
Flucytosin* (5-Fluorcytosin) Ancotil® (fluoriertes Pyrimidin)	Sproßpilze, Erreger der Chromoblastomykose	Hemmung der RNA- und DNA-Synthese	oral, i.v., (liquorgängig)	100–200 mg/kg/Tag, in 4 gleichen Dosen	gastrointestinale Störungen, Myelotoxizität, (Hepatotoxizität)

kommen bei *Candida albicans, Candida tropicalis, Cryptococcus neoformans* und *Aspergillus*-Arten vor. Außerdem treten sekundäre Resistenzen unter der Behandlung auf. Daher sind Resistenztestungen erforderlich. Die Kombinationsbehandlung mit Amphotericin B führt zu den relativ besten klinischen Erfolgen, indem eine sekundäre Resistenzentwicklung verzögert und eine niedrigere Dosierung von Amphotericin B ermöglicht wird. Eine Monotherapie mit Flucytosin ist heute nur noch bei der Chromoblastomykose gerechtfertigt.

Substanzklasse Azole

Bei den Azolen handelt es sich um ältere Derivate mit **Imidazol-**Struktur (Miconazol und Ketoconazol; topische Anwendung: Clotrimazol und Econazol) oder neuere Derivate mit **Triazol-Struktur** (systemische Anwendung: Fluconazol, Itraconazol und Voriconazol). Die Azole hemmen die Ergosterolsynthese in der Pilzzelle durch Eingriff in das Cytochrom-P 450-System; dadurch kommt es z.T. auch zu unerwünschten Auswirkungen auf die Steroidsynthese des Menschen. Wirkungsspektren und Nebenwirkungen der Azole sind unterschiedlich (s. Tab. 7.9).

Miconazol und Ketoconazol

Diese beiden Imidazol-Derivate wurden als erste Vertreter der Azole breit eingesetzt. Heute sollten sie durch die besser verträglichen, selektiv wirksamen Triazol-Präparate ersetzt werden (s. Tab. 7.9).

Fluconazol

Fluconazol ist ein systemisch wirksames Triazol-Derivat, das seit 1990 zur Behandlung systemi-

Itraconazol

Itraconazol ist ein orales Breitspektrum-Antimykotikum mit systemischer Wirkung vom Typ der Triazole, das 1991 in Deutschland zur Mykosebehandlung zugelassen wurde. Im Vergleich zu den anderen Azolen wirkt Itraconazol gegen *Aspergillus*-Arten, insbesondere gegen *Aspergillus fumigatus*. Es ist gegen *Candida*-Arten, *Cryptococcus neoformans*, Dermatophyten, *Sporothrix schenckii*, gegen *Cladosporium*- und *Phialophora*-Arten sowie gegen dimorphe Pilze wirksam. Itraconazol wird ferner bei Infektionen mit sog. Schwarzen Hefen (*Exophiala dermatitidis* und verwandte Arten) eingesetzt. Nebenwirkungen treten relativ selten auf (s. Tab. 7.9).

Voriconazol

Voriconazol ist ein neues oral und i.v. applizierbares Triazol-Derivat mit einem breiten Spektrum antifungaler Aktivitäten in vitro und in vivo gegen viele opportunistische Pilze einschließlich *Aspergillus*-, *Cryptococcus*- und *Candida*-Arten, die gegen Fluconazol resistent sind, z.B. *Candida krusei* und *Candida glabrata*. Voriconazol scheint eine vielversprechende Alternative für Amphotericin B und Itraconazol bei der Behandlung der invasiven Aspergillose, der Fluconazol refraktären Ösophagus-Candidose und der Fusarium-Mykose zu sein. Die klinische Erprobung ist noch nicht abgeschlossen.

Substanzklasse Benzofurane

Griseofulvin

Griseofulvin wurde 1939 als ein schlecht wasserlösliches Benzofuran-Derivat mit fungistatischer Wirkung ausschließlich gegen Dermatophyten aus *Penicillium griseofulvum* isoliert und 1958 in die Therapie von

Griseofulvin. Es ist jedoch unwirksam bei Candidamykosen der Haut und bei der Pityriasis versicolor. Terbinafin wird schnell und vollständig resorbiert mit starker Anreicherung in der Kutis, im Fettgewebe und in Nägeln. Seine Verträglichkeit ist gut (s. Tab. 7.9).

Substanzklasse Candine

Derivate der Candine sind 1,3-β-Glucansynthetase-Hemmer der Zellwandsynthese bei Pilzen. Zwei Präparate, LY – 303.366 (Fa. Lilly) und L – 743.872 (Fa. Merck), sind seit 1996 in klinischer Erprobung und versprechen Fortschritte für die Therapie der Candidose, Aspergillose und der Erkrankung durch *Pneumocystis carinii*.

7.10 Resistenztestung gegen Antimykotika

Flucytosin: Die routinemäßige Empfindlichkeitstestung von Pilzstämmen ist obligat, da relativ häufig mit Primär- und Sekundärresistenzen gerechnet werden muß. Das Wirkungsspektrum umfaßt vor allem Sproßpilze.

Polyen-Präparate: Gegen **Nystatin** sind Sproßpilze mit Ausnahme von *Candida rugosa* nach wie vor empfindlich, so daß Resistenztestungen entbehrlich sind. Vor einer Lokalbehandlung von Mykosen durch Schimmelpilze ist eine Testung zu empfehlen.

Im Wirkungsspektrum von konventionellem **Amphotericin-Desoxycholat** und **Amphotericin-Lipid-Zubereitungen** liegen Sproß- und Schimmelpilze sowie die Dimorphe Pilzgruppe. Empfindlichkeitstestungen sind kaum notwendig, da Resistenzen nur selten beobachtet wurden. Zu testen sind jedoch Isolate von *Candida lusitaniae* sowie *Fusarium*- und *Scedosporium*-

8

Spezielle Medizinische Mykologie

Heidi Schütt-Gerowitt, Reinhard Rüchel

8

Trichophyton schoenleinii ist auch geschichtlich interessant, denn er war der erste als Infektionserreger erkannte Mikroorganismus. Bereits 1837 fand REMAK in den Krusten des Favus „runde Körper und verzweigte Fäden" und 1839 erkannte SCHÖNLEIN den Zusammenhang zwischen diesen Strukturen und der Erkrankung. 1842 bewies REMAK im Selbstversuch die Erregernatur dieses Pilzes und veröffentlichte 1845 seine genaue Beschreibung.

8.1.2 Die Gattung Microsporum

Infektionen durch *Microsporum*-Arten werden als **Mikrosporie** bezeichnet. Diese Erkrankung ist im Kindesalter sehr kontagiös, so daß Epidemien in Schulen oder Kinderheimen auftreten können. Vor allem das Kopfhaar wird befallen, wobei der Pilz um das infizierte Haar Sporenmanschetten bildet. Die Haare brechen 1 mm oberhalb der Kopfhaut ab, sie wachsen aber nach. Die Erkrankung heilt mit Einsetzen der Pubertät meist spontan ab. Auf der Haut führt der *Microsporum*-Befall bei Kindern zu scharf begrenzten, scheibenförmigen Herden, vor allem im Gesicht. Auch bei Erwachsenen sind *Microsporum*-Arten häufige Erreger von Hautmykosen, vor allem *Microsporum canis* und *M. audouinii*. Die Infektionsquelle für *Microsporum canis* sind Katzen, Hunde und evtl. Meerschweinchen, für *M. audouinii* hingegen der Mensch. Durch die geophile Art *M. gypseum* können sich z.B. Gärtner bei Verletzungen infizieren. Bei ihnen wird die Infektion als Berufskrankheit anerkannt. Zum Nachweis des *Microsporum canis*- und des *M. audouinii*-Befalls benutzt man u.a. die blaugrüne Fluoreszenz der befallenen Areale im WOOD-Licht (UV-Licht von 365 nm Wellenlänge).

8.1.3 Die Gattung Epidermophyton

Die einzige Art dieser Gattung ist *Epidermophyton floccosum*. Der Pilz befällt oft die Innenseiten der Oberschenkel, aber auch andere Hautstellen *(Tinea corporis, faciei, inguinalis)* und die Nägel *(Tinea unguium)*. Die Haare werden durch *Epidermophyton* nie befallen. Klinisch ist der Befall durch *Epidermophyton* nicht von dem Befall durch *Trichophyton*- oder *Microsporum*-Arten zu unterscheiden.

Bei den Dermatophytosen kommt es oft zu einer bakteriellen Superinfektion. So tritt bei der Tinea pedum durch die Infektion mit Streptokokken häufig ein Erysipel auf, bei den übrigen Lokalisationen eher eine Pyodermie durch *Staphylococcus aureus*.

Diagnostik der Dermatophytosen

(s. a. Kapitel 7: Allgemeine Medizinische Mykologie)

Bei Verdacht auf Haut- oder Nagelmykose müssen nach Abreiben mit 70%igem Alkohol Hautschuppen bzw. Nagelgeschabsel vom Rand der Läsion gewonnen werden, da die Prozesse zentrifugal fortschreiten. Mit Wattetupfern abgenommene Abstriche sind für den Pilznachweis unbrauchbar. Haarstümpfe werden mit der Epilationspinzette herausgezupft. Zum mikroskopischen Nachweis von Pilzstrukturen im Nativpräparat wird das undurchsichtige keratinhaltige Material mit 20%iger NaOH oder KOH oder mit Chloral-Laktophenol-Lösung überschichtet, ein Deckglas aufgelegt und nach einer Einwirkungszeit von ca. 30 min bei mittlerer Vergrößerung beurteilt. Höhere Kontraste lassen sich durch Verwendung von optischen Aufhellern in KOH erzielen, wenn ein Fluoreszenzmikroskop zur Verfügung steht. Man erkennt dann im Gewebe Pilzfäden bzw. bei Haaren die typische Sporulation durch Zerfall der Hyphen in Arthrosporen (Abb. 8.1a,b). Da die Abgrenzung gegen Artefakte schwierig sein kann, erfordert die Beurteilung viel Erfahrung.

Für den definitiven Nachweis und die Identifizierung der Pilze ist ihre kulturelle Anzüchtung erforderlich. Dazu werden Hautschuppen, Nagelgeschabsel oder Haare auf die speziellen Pilznährböden aufgebracht und bei 22–30 °C drei Wochen bebrütet. Die Identifizierung erfolgt dann aufgrund kultureller Eigenschaften und mikroskopisch-morphologischer Kriterien: So wächst z.B. *Trichophyton rubrum* in Form eines weißen, flaumigen Thallus und an der Unterseite der Agarplatte sieht man eine Rotfärbung. Die Kultur von *Epidermophyton floccosum* hat eine z.T. gelblich-grüne, z.T. weißliche, gefaltete Oberfläche. Die endgültige Identifizierung erfolgt anhand der im mikroskopischen Präparat erkennbaren Makrokonidien (s. Abb. 7.1).

Therapie der Dermatophytosen

Zur Therapie der oberflächlichen Mykosen durch die Dermatophyten benutzt man primär lokal wirksame Stoffe, die die Pilzelemente abtöten und häufig auch das Abschälen von Epidermiszellen bewirken, so daß die Pilze mit ihnen eliminiert werden. Wichtig ist, daß die Lo-



Abb. 8.1a–b Von Pilzen befallene Haare: a) ektotricher Pilzbefall; b) endotricher Pilzbefall (zur Verfügung gestellt von Dr. LUCILLE GEORG, Atlanta,GA).

kalbehandlung mit Salben, Cremes, Lotionen oder Pudern lange genug durchgeführt wird. Es ist zu beachten, daß durch cortisonhaltige Lokaltherapeutika die typischen Entzündungszeichen unterdrückt und somit die Beurteilung erschwert werden kann. Diese uncharakteristische Erscheinungsform wird als *Tinea incognita* bezeichnet. Bei der Behandlung der Fußpilzerkrankung (Tinea pedis, athlete foot) müssen die Strümpfe und die Innenflächen der Schuhe desinfiziert werden. Infizierte Haare werden möglichst kurz abgeschnitten, um die Masse der infektiösen Sporen zu eliminieren. Bei Nagelmykosen, insbesondere bei Zehennägeln, ist in der Regel die Entfernung der infizierten Nagelteile erforderlich. Zur lokalen Therapie stehen u.a. Imidazole, Tolnaftat, Natamycin, Ciclopiroxolamin und Allylamine zur Verfügung. Bei den tieferen Formen der Dermatomykosen kommt eine orale Therapie in Betracht, die bei schweren Formen über Wochen durchgeführt werden muß. Mittel der Wahl sind heute Terbinafin oder Itraconazol; Griseofulvin wird praktisch nicht mehr verwendet (s. a. Kap. 7.9: Antimykotika).

8.2. Erkrankungen durch Sproßpilze (Hefen)

In der großen Gruppe der Sproßpilze (yeast-like fungi) kommen Krankheitserreger vor allem in den Gattungen *Candida* (incl. *Torulopsis*), *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Malassezia (Pityrosporum)* und *Cryptococcus* vor. Andere Sproßpilze wie z.B. die der Gattung *Saccharomyces* haben als Bäcker-, Bier- oder Weinhefen wirtschaftliche Bedeutung. *Rhodotorula*-Arten sind durch ihr rotes Pigment gut erkennbar; sie kommen überwiegend als Kontaminanten und nur sehr selten als Erreger vor.

8.2.1 Die Gattung Candida

(einschließlich der ehem.Gattung *Torulopsis)*
Die Gattung *Candida*, die jetzt auch die Gattung T*orulopsis* einschließt, umfaßt ca. 200 Arten, von denen *Candida albicans* die wichtigste und am häufigsten vorkommende ist. Sie ist an den Warmblüterorganismus adaptiert, während die anderen Arten, z.B. *C. tropicalis, C. parapsilosis, C. guilliermondii, C. kefyr* (ältere Bezeichnung *C. pseudotropicalis), C. krusei, C. lusitaniae und C. (Torulopsis) glabrata* auch ubiquitär vorkommen. Die Speziesbestimmung ist insbesondere wegen des unterschiedlichen Resistenzverhaltens gegen Antimykotika wichtig.

Pathogenese und Klinik der Candida-Mykosen

Candida-Arten siedeln sich nicht selten in geringer Zahl auf den Schleimhäuten und auf der Haut des Menschen an, ohne Krankheitserscheinungen hervorzurufen. Dabei stellt sich ein Gleichgewichtszustand ein, der es den Pilzen erlaubt, als Kommensalen zu leben. Bei Änderung der lokalen oder allgemeinen Abwehrlage ist dieses Gleichgewicht gestört, so daß aus der Besiedlung eine Infektion werden kann. Da *Candida*-Mykosen meist auf diesem Wege entstehen, handelt es sich überwiegend um endogene Infektionen. Exogene Infektionen sind aber ebenfalls möglich, z.B. in der Neonatologie;

auch nosokomiale Infektionen sind offenbar nicht selten.

Die Fähigkeit, Krankheitsprozesse hervorzurufen, ist für die einzelnen Sproßpilzarten unterschiedlich. Sie hängt von den bereits im Kapitel Allgemeine Medizinische Mykologie besprochenen Virulenzfaktoren des Pilzes (Tab. 7.4) ab. Bei den Adhäsionsphänomenen ist noch besonders die Fähigkeit von *Candida*-Arten, an Plastikmaterialien wie z.B. Katheter zu adhärieren, hervorzuheben. Entscheidend für die Entstehung einer *Candida*-Mykose sind aber die Abwehrmechanismen des Wirtes. Unter diesen spielt die Phagozytose durch polymorphkernige Leukozyten, Monozyten und Makrophagen die Hauptrolle, jedoch wirken auch T-Lymphozyten und humorale Faktoren (Komplementkomponenten) bei der Abwehr mit. Die Störung der Abwehrmechanismen kann die direkte Folge einer Erkrankung sein (z.B. *Candida*-Infektionen bei Diabetikern und AIDS-Patienten), am häufigsten ist sie aber iatrogen bedingt und zwar durch immunsupprimierende Chemotherapien bei Malignomen, durch die Unterdrückung der Immunreaktionen nach Transplantationen sowie durch eine Kortikosteroid-Therapie. Auch eine längerfristige Antibiotikatherapie kann durch die Störung der bakteriellen Normalflora zur Überwucherung durch Hefepilze führen.

Bei Menschen in normaler Abwehrlage spielen Sproßpilze als Krankheitserreger kaum eine Rolle. In wissenschaftlichen Studien konnten die in der Laienpresse der Pilzbesiedlung zugeschriebenen gastrointestinalen und allgemeinen Symptome (z.B. chronische Müdigkeit, Depressivität), die als *Candida*-Hypersensitivitätssyndrom bezeichnet wurden, nicht mit einer Candidakolonisation des Digestionstraktes in Zusammenhang gebracht werden.

henzwischenräumen kommt es vor allem bei Menschen, die sich häufig waschen und nicht genügend abtrocknen, zu weißlichen, mazerierenden Hautveränderungen, die durch Schwitzen begünstigt werden. Die Erscheinungen können ähnlich sein wie die durch Dermatophyten hervorgerufenen. Auch als Erreger von Nagelbett- und Nagelfalzentzündungen **(Paronychie)** kommen *Candida*-Arten vor. Prädisponiert sind hierfür Menschen, die viel mit Wasser umgehen müssen. Ein häufiges Krankheitsbild ist die *Windeldermatitis* durch *Candida*, die nicht nur bei Säuglingen, sondern auch bei inkontinenten alten Menschen auftritt. Das feuchtwarme Milieu – insbesondere unter Kunststoffwindeln – ist ideal für die Sproßpilze. Es kommt relativ rasch zu einer großflächigen Erosion und zur Mazeration der Haut, einhergehend mit Brennen und Juckreiz.

Mukokutane Candida-Mykose

Candida-Infektionen der Schleimhäute äußern sich in Form von weißlichen Belägen, dem **Soor** (engl. thrush). Die Beläge sind abwischbar, wobei die befallene Stelle leicht bluten kann. Der orale Soor tritt bei angeborener, erworbener oder therapiebedingter Abwehrschwäche auf, so z.B. bei Säuglingen, bei Malignompatienten unter Chemotherapie, bei Asthma-Patienten, die Steroid-Inhalationen erhalten, sowie bei AIDS-Patienten. Der orale Soor ist eine der „Indikatorkrankheiten" für AIDS. Eine fortgeschrittene Form des mukokutanen *Candida*-Befalls ist die *Candida-Ösophagitis*, die ebenfalls vor allem bei AIDS-Patienten oder als Folge einer Therapie maligner Erkrankungen auftritt. Symptome der Soorösophagitis sind Dysphagie, Schmerzen und retrosternales Brennen. Bei endoskopischer Untersuchung des Magens und des Duodenums

8



fekt durch *Candida* zu beweisen, denn der qualitative Nachweis von *Candida* im Urin genügt nicht, da die Pilze auf den Schleimhäuten vor-

eine Organabsiedlung bei Risikopatienten auch bei kurzfristigem Zirkulieren der Pilze im Blut bereits erfolgt sein kann.



Abb. 8.5 Reisdeckglaskultur von *Candida albicans*: Sproßzellen, Pseudomyzel und die typischen Chlamydosporen.

die an sie gestellten Erwartungen erfüllt. Falsch negative serologische Reaktionen können dadurch bedingt sein, daß es sich um immunsupprimierte Patienten handelt, die keine reguläre Immunantwort hervorbringen können. Der Antigennachweis kann trotz des Vorliegens einer disseminierten Candidainfektion ne-

Bei Risikopatienten sollte ein Candidabefall auch ohne klinische Symptomatik „prophylaktisch behandelt" werden. Insbesondere ist der Verdauungstrakt als Hauptreservoir für eine eventuelle Ausbreitung der Pilze zu sanieren. Hierfür kommen die nicht resorbierbaren Polyen-Antimykotika in oraler Zubereitung oder die Triazole in Frage. Die Durchführung einer Prophylaxe bei nicht besiedelten immunsupprimierten Patienten wird nicht einheitlich gehandhabt. Die Therapie einer systemischen *Candida*-Infektion kann mit der parenteralen Fluconazolgabe von 400–800 mg pro Tag begonnen werden, es sei denn, daß primär resistente Arten, insbesondere *Candida krusei*, oder sekundär resistente Stämme nachgewiesen wurden oder zu erwarten sind, oder daß es sich klinisch um eine schwere Infektion handelt. Dann muß Amphotericin B in Kombination mit Flucytosin parenteral eingesetzt werden. Die neuerdings verfügbaren liposomalen Amphotericin-Präparate, deren Nephrotoxizität und pyrogene Aktivität geringer sind,

Form von grau-weißen Knötchen an den Haaren, vor allem an vorgeschädigten Barthaaren, äußert. Die Diagnose erfolgt durch den kulturellen Nachweis der Pilze von den befallenen Haaren. Zur Therapie gehört neben der Gabe von Azol-Antimykotika die Entfernung der Haare.

8.2.3 Die Gattung Malassezia (Pityrosporum)

Malassezia furfur und seine Verwandten sind hefeähnliche, saprophytäre Bewohner der Haut, die auch unter den Synonymen *Pityrosporum ovale* und *P. orbiculare* geführt werden. Die intensive Besiedlung mit *Malassezia* kann das

nität voraus, nur bei Vogelhaltern wird gelegentlich eine primäre Kryptokokkose beobachtet. Insbesondere bei AIDS-Patienten spielt die Kryptokokkose eine große Rolle. Aufgrund der aerogenen Aufnahme des Erregers wird in der Regel zuerst die Lunge befallen. Dieses primäre Stadium der Infektion, welches wahrscheinlich einige Wochen dauert, verläuft völlig uncharakteristisch oder tritt klinisch gar nicht in Erscheinung. Es wird daher meist nicht diagnostiziert. Im Körper des abwehrgeschwächten Patienten kommt es zur hämatogenen Streuung, und es entsteht dann am häufigsten eine schleichend verlaufende, aber progressive Meningoenzephalitis, die ohne Therapie zum Tode führt. Die an-



Der Aspergillus-Befall der Lunge kann sich je nach Abwehrlage als allergische Erkrankung (s.u.), als chronisch-nekrotisierende Bronchitis, als Aspergillom oder als Pneumonie manifestieren. Beim Aspergillom (Pilzball, fungus ball) handelt es sich um eine Masse aus verformten Hyphen, die sich in einer Höhle, z.B. in einer tuberkulösen Kaverne oder in Bronchiektasen, ausbilden kann. Röntgenologisch ist das Aspergillom durch eine Luftsichel über der meist beweglichen, kugelförmigen Pilzmasse charakterisiert. Die akute **Aspergillus-Pneumonie**, die bei hochgradiger Abwehrschwäche auftritt, kann einer Miliartuberkulose ähneln. Sie kann durch Gefäßverschlüsse infarzierend verlaufen und keilförmige Atelektasen hervorrufen. Eine Pneumonie bei Risikopatienten, die von basalen, münzgroßen Rundherden (coin lesions) ausgeht, läßt ebenfalls eine Aspergillose vermuten. Bei beiden Formen des Lungenbefalls kann es zu Haemoptysen kommen, evtl. kann durch Arrosion von größeren Gefäßen eine Lungenblutung zum Tode führen. Die Disseminierung führt am häufigsten zu einer herdförmigen Enzephalitis. Seltener betroffene Organe sind das Herz, die Schilddrüse und die Haut, wobei sich der Hautbefall in Form von münzgroßen braunen Infiltraten zeigen kann.

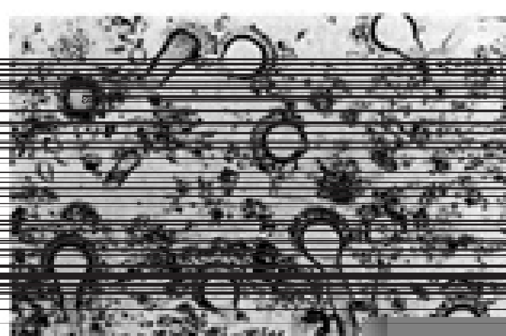
Eine saprophytäre bronchopulmonale Aspergillose kommt bei Patienten mit zystischer Fibrose oder chronisch-obstruktiver Bronchitis vor. Es handelt sich um eine *Aspergillus*-Besiedlung der Lunge ohne Gewebszerstörung. Eine Übergangsform stellt die **allergisch-bronchopulmonale Aspergillose (ABPA)** dar, die mit flüchtigen Infiltraten und der Ausscheidung bronchialer Schleimpfröpfe einhergeht, in denen sich der Pilz nachweisen läßt. Bei immunkompetenten

Anzüchtung und morphologische Identifizierung der Pilze gestellt werden. Beim Aspergillom gibt das Röntgenbild den Hinweis. Als weitere diagnostische Möglichkeit gibt es Tests zum **Antigennachweis (Galactomannan)** im Serum, die jedoch nur bei wiederholtem positiven Reaktionsausfall verwertbar sind. Der Nachweis von Antikörpern gegen *Aspergillus*-Arten spielt vor allem beim Aspergillom des immunkompetenten Patienten eine Rolle, da wegen der Abkapselung des Prozesses die Pilze direkt nur selten nachgewiesen werden können. Bei den immunsupprimierten Patienten hat der Antikörpernachweis naturgemäß nur eine eingeschränkte Aussagefähigkeit.

Therapie und Prophylaxe

Ein einzelnes Aspergillom kann u. U. operativ entfernt werden. Für die antimykotische Therapie kommen praktisch nur Amphotericin B-Zubereitungen, evtl. in Kombination mit Flucytosin in Frage. Von den Triazolen besitzt Itraconazol eine Wirkung gegen *Aspergillus*, allerdings wirkt es nur fungistatisch und ist oral, demnächst auch intravenös einsetzbar, während das neue *Aspergillus*-wirksame Triazolderivat Voriconazol oral und parenteral applizierbar sein wird.

Da es sich bei den Patienten mit Aspergillosen meist um primär Schwerkranke handelt, ist der Therapieerfolg schlecht. Es muß deshalb darauf geachtet werden, daß in der Nähe immunsupprimierter Patienten keine schimmelpilzhaltigen Materialien (z.B. Topfblumen, Trockenblumen,



8

mykosen oder Zygomykosen zusammengefaßt werden. *Mucorales* sind in der Umwelt weit verbreitet. So ist z.B. der gemeine Brotschimmel, *Rhizopus stolonifer*, ein typischer Vertreter der *Mucorales*. Diese imponieren in der Kultur bei 37 °C als sehr schnell wachsende Schimmelpilze, die z.T. pigmentierte, gerade noch sichtbare Sporangien (Köpfchen) bilden. Es sind meist kugelförmige Gebilde an den Enden von Hyphen, die von einer Membran umschlossen sind und viele Endosporen enthalten (Abb. 8.8). Nach der Reifung werden die Sporen freigesetzt und dienen der ungeschlechtlichen Fortpflanzung des Pilzes. Als infektiöse Agentien werden sie mit dem Luftzug verschleppt.



Abb. 8.8 Sporangium eines Köpfchenschimmels.

Pathogenese und Klinik der Mukormykosen

Obgleich die Sporen der *Mucorales* in der Umwelt weit verbreitet sind, kommt es wegen der geringen Virulenz dieser Pilze doch nur selten zu Erkrankungen. Für die Abwehr spielen – wie bei Aspergillus – die neutrophilen Granulozyten die Hauptrolle. Bei den Krankheitsbildern unterscheidet man die rhinozerebrale, die pulmonale, die gastrointestinale und die kutane Mukormykose sowie den Befall des ZNS. Die rhinozerebrale Form tritt vor allem bei ketoazidotischen Diabetes-Patienten und bei Leukämie-Patienten mit langfristiger Leukopenie auf. Es werden zunächst die Nasennebenhöhlen befallen, von wo aus eine Ausbreitung ins ipsilaterale Auge mit Orbitalphlegmone, Nekrose im Augenwinkel und Erblindung durch Verschluß der Zentralarterie des Nervus opticus stattfinden kann. Die pulmonale Mukormykose entsteht vorwiegend bei neutropenischen Patienten und Patienten unter Desferrioxamin-Therapie. Es kommt zu Gewebsnekrosen, die zu Hämoptysen und durch Arrosion größerer Gefäße zur tödlichen Lungenblutung führen können. Typische klinische Symptome gibt es nicht. Die *Mucorales* haben eine besondere Affinität zu Blutgefäßen, in denen es zu thrombotischen Verschlüssen kommen kann. Selten kommt bei immunsupprimierten oder bei extrem unterernährten Patienten ein gastrointestinaler Befall durch Mucorales vor, obgleich die Sporen oft mit der Nahrung aufgenommen werden. Zum Hautbefall durch *Mucorales* kann es auch bei nicht immunsupprimierten Menschen nach direkter Inokulation der Pilzsporen über Wunden kommen. Die Infektion äußert sich in Form einer Zellulitis mit zentraler Nekrose, eine weitere Ausbreitung ist aber nur bei Immunsuppression zu befürchten. Neben der Immunsuppression ist – wie bereits erwähnt – eine Desferrioxamin-Therapie, die zur Entfernung von dreiwertigem Eisen oder Aluminium aus dem Körper durchgeführt wird, ein Risikofaktor für eine Infektion mit *Mucorales*, da die Köpfchenschimmel den Siderophor als Wuchsmittel verwenden können.

Diagnostik

Die Hauptmerkmale der Mukormykose sind Gefäßinvasion und Gewebsnekrose, die sich auf der Haut oder in der Nasenhöhle durch schwarze Verfärbung des betroffenen Gewebes zeigt. In histologischen Präparaten sucht man dann nach breiten, unseptierten Hyphen mit unregelmäßiger Verzweigung (Geweihform), um die Verdachtsdiagnose „Mukormykose“ zu stellen. Eine sichere Aussage ist nur nach Anzüchtung möglich. Serologische Methoden stehen nicht zur Verfügung.

Therapie

Neben der Gabe von Amphotericin B sind Resektion bzw. Debridement wichtige therapeutische Maßnahmen. Die Prognose ist schlecht, wenn es nicht gelingt, die ursächliche Störung (diabetische Ketoazidose, Leukopenie) zu beseitigen. Die Mukormykose gilt als die gefährlichste Mykose.

8.3.4 „Dematium“-Arten = „Schwärzepilze“

In dieser Gruppe sind Pilze verschiedener Gattungen zusammengefaßt, deren Kolonien durch die Melanin-

einlagerung in den Zellwänden dunkel pigmentiert sind und eine samtartige Oberfläche haben. Es gehören hierzu die Gattungen *Cladosporium, Exophiala, Fonsecaea, Phialophora* und andere; die Nomenklatur ist nicht einheitlich und für den Nichtspezialisten verwirrend. Bezüglich der von ihnen hervorgerufenen Krankheitsbilder kann die Unterscheidung in Chromoblastomykose und Phaeohyphomykose (Chromomykose) vorgenommen werden, wobei manche Pilze sowohl die eine als auch die andere Erkrankungsform hervorrufen können.

Die **Chromoblastomykose** ist eine chronische Erkrankung der Haut und des Subkutangewebes, die zwar weltweit vorkommt, vor allem aber in tropischen und subtropischen Ländern auftritt. Dabei handelt es sich um eine kutane oder subkutane Mykose, bei der im Gewebe runde, braune Pilzzellen auftreten, die sich teilen und nicht sprossen. Charakteristisches Strukturelement sind die dunkel gefärbten Sklerotien der Pilze, die *Fumago-Körper* (sclerotic bodies) genannt werden. Die Erkrankung entsteht meist durch traumatische Inokulation der Pilze und gehört somit zu den Verletzungsmykosen. Der klinsche Verlauf erstreckt sich oft über Jahre, indem sich die Infektion von einer kleinen granulomatösen Eiterungsstelle ausbreitet und schließlich die Lymphbahnen erreichen kann. Die Diagnose ist leicht zu stellen, wenn die typischen Fumago-Körper nachgewiesen werden können. Die Therapie der Chromoblastomykosen ist schwierig, da die Pilze unter der Epithel"decke" sitzen. Sie erfolgt mittels chirurgischer oder physikalischer Maßnahmen (z.B. lokale Hitzetherapie) und langfristig antimyko-

Maßnahmen Itraconazol und/oder 5-Fluorcytosin in Frage, während Amphotericin B nur eine eingeschränkte Wirksamkeit besitzt. Die Prognose der systemischen Infektion ist schlecht.

8.4 Mykosen durch Verletzungen

Verletzungsmykosen sind Pilzinfektionen immunkompetenter Menschen. Sie treten in den Tropen und Subtropen wegen des Barfußgehens wesentlich häufiger auf als im gemäßigten Klima, wobei die Infektion oft von infiziertem Holz oder von Dornen ausgeht. An erster Stelle unter den Erregern ist der dimorphe Pilz *Sporothrix schenckii* zu nennen. Durch diesen Pilz kann es eine bis mehrere Wochen nach der Verletzung zu fistelnden, granulomatösen Schwellungen des betroffenen Bereiches kommen. Im Fisteleiter können Drusen zu finden sein, die aus Pilzmassen bestehen und zur Verwechslung mit einer Aktinomykose führen können. Der Krankheitsverlauf ist chronisch progredient, wobei die Ausbreitung entlang den Lymphbahnen für eine durch *Sporothrix* hervorgerufene Mykose typisch ist. Neben der kutanen Form kommt auch der Befall von Knochen und Gelenken vor, in

sen). Das Krankheitsbild tritt vor allem in Indien, Mexiko und Afrika auf. Wegen der vielfältigen Ätiologie ist der Erregernachweis absolut notwendig, denn neben den meist erforderlichen chirurgischen Maßnahmen richtet sich die medikamentöse Therapie nach dem nachgewiesenen Erreger. Beim Eumyzetom kommt eine langfristige Gabe von Itraconazol in Betracht.

8.5 Dimorphe Pilzgruppe

Während disseminierte Mykosen durch Sproßpilze oder Schimmelpilze nur bei Abwehrschwäche entstehen, sind die sogenannten dimorphen Pilze obligat pathogen. Sie sind die Erreger der „klassischen" Systemmykosen. Der Dimorphismus dieser Pilze drückt sich in hefeähnlichem Wachstum bei 37 °C (parasitäre Phase) und schimmelförmigem Wachstum bei Temperaturen unter 30 °C aus (saprophytäre Myzelphase). Da eine Übertragung von Mensch zu Mensch nicht möglich ist und diese Pilze nur in bestimmten Endemiegebieten in Nord-, Mittel- und Südamerika und in Afrika vorkommen, kann die Infektion nur dort erworben werden (Reiseanamnese!; Ausnahme: Laborinfektionen). Für das Arbeiten mit allen biphasischen Pilzen gilt die *Sicherheitsstufe S3;* sie dürfen in Deutschland experimentell nicht bearbeitet werden!

Coccidioides immitis

Der Pilz lebt als Saprophyt im Boden arider Gebiete der USA sowie Mittel- und Südamerikas. Die Hyphen zerfallen bei Trockenheit in Arthrosporen (Gliedersporen), auf denen die ungeschlechtliche Fortpflanzung von *C. immitis* in der Natur beruht. Nach dem Einatmen der in diesem saprophytären Zyklus gebildeten Sporen entwickeln sich im Gewebe des Wirtsorganismus die Sphaerulen. Das sind sporangienartige, kugelförmige Gebilde, die von einer Membran umschlossen sind und viele Endosporen enthalten (Abb. 8.9). Nach Platzen der Sphaerule kann sich innerhalb weniger Tage aus jeder Endospore eine neue Sphaerule entwickeln (parasitärer Zyklus). Bei ca. 60% der Befallenen verläuft die Infektion asymptomatisch oder es kommt lediglich zu grippeähn-

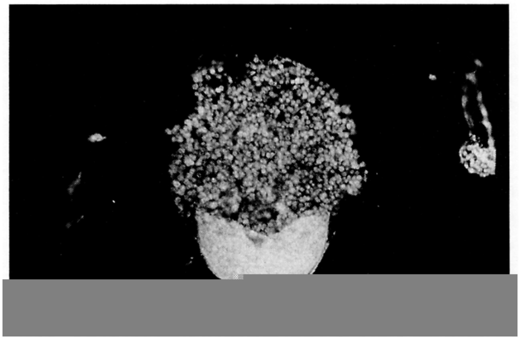
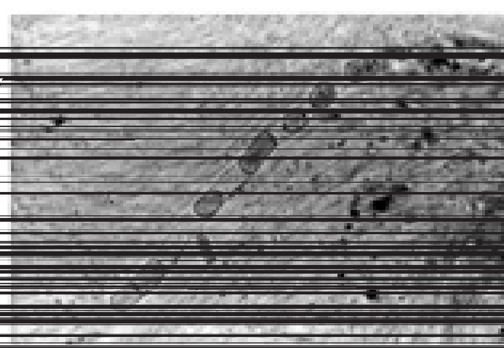


Abb. 8.9 Sphaerule von *Coccidioides immitis.*

Die **Diagnose** wird durch den mikroskopischen Nachweis der Sphaerulen in Sputum, Eiter oder anderen Materialien gestellt. Die kulturelle Anzüchtung kann auf SABOURAUD-Agar oder auf bluthaltigen Medien erfolgen. Dabei ist im Labor höchste Vorsicht geboten (Arbeiten nur unter einer Sicherheitswerkbank durchführen), da es bei schimmelförmigem Wachstum zu Laborinfektionen durch Einatmen der Arthrosporen (Abb. 8.10) aus zerfallendem Myzel kommen kann. Hingegen ist der Umgang mit der parasitären Hefephase allein relativ ungefährlich. Die Identifizierung aufgrund des kulturellen Wachstums ohne den Nachweis von Sphaerulen ist schwierig. Als weitere diagnostische Möglichkeiten stehen serologische Reaktionen in Spezialinstituten zur Verfügung, die zwar die Auseinandersetzung des Körpers mit dem Erreger anzeigen, jedoch nicht ohne weiteres die Ätiologie der aktuellen Symptomatik beweisen. Dies trifft auch für den Hauttest (Sphaerulintest) zu, der als Ausschlußreaktion sowie zur Feststellung des Durchseuchungsgrades in Endemiegebieten Bedeutung hat.
Da die Erkrankung meist spontan ausheilt, kommt nur in besonderen Fällen eine antimykotische Therapie mit Amphotericin B oder Itraconazol in Betracht.



Histoplasma capsulatum

Dieser biphasische Pilz ist der Erreger der Histoplasmose, die im Mittleren Westen und in den Südstaaten der USA endemisch vorkommt. Die afrikanische Histoplasmose wird in Zentralafrika durch die großzellige *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* hervorgerufen.

H.capsulatum findet sich in den Endemiegebieten im Erdboden, besonders häufig in Vogelkot und an Fledermausnistplätzen. Nach Einatmen des infektiösen Staubs manifestiert sich die Infektion bei nicht immunsupprimierten Menschen primär als Tuberkulose-ähnliche Erkrankung der Lunge, die meist spontan ausheilt. Es kann aber auch zu einem chronischen Verlauf mit Schwäche, Gewichtsverlust, Müdigkeit und Ulzera im Mund kommen. Bei Patienten mit einem Vorschaden der Lunge tritt eine chronisch-cavitäre Erkrankungsform auf, und bei Immunsupprimierten, insbesondere bei AIDS-Patienten, kommt es zu einer disseminierten Form mit Befall von Lymphknoten, Milz, Leber und Knochenmark sowie ulzerösen Veränderungen im Mund. Bei der afrikanischen Histoplasmose tritt kein Lungenbefall auf; es entstehen subkutane Herde, granulomatöse Veränderungen in der Mundhöhle und Knochenläsionen.

Für die **Diagnostik** ist bei der disseminierten Form die Abnahme von Blutkulturen erforderlich. Die kulturelle Anzüchtung dauert 5–14 Tage. Aus anderen Materialien läßt sich der Pilz wegen seiner geringen Widerstandsfähigkeit oft nicht kulturell nachweisen. In der Myzelphase bei < 30 °C entwickeln sich typische Makrokonidien, die einem Rad mit abstehenden Speichen ähneln (Abb. 8.11). Im mikroskopischen Präparat von klinischem Material sprechen Hefezellen in Makrophagen für Histoplasmose. In erster Linie ist man aber auf serologische Reaktionen angewiesen, die in Speziallaboratorien durchgeführt werden. Den Hauttest *(Histoplasmin-Test)* kann man im positiven Fall nur außerhalb von Endemiegebieten zur Diagnosestellung verwerten. In Endemiegebieten dient er zur Feststellung des Durchseuchungsgrades und im negativen Fall als Ausschlußreaktion. Der Hauttest darf nur *nach* der Blutentnahme für die serologischen Reaktionen durchgeführt werden.

Die primäre Form der Histoplasmose erfordert in der Regel keine Therapie; bei den anderen Erscheinungsformen kommt Itraconazol und in schweren Fällen Amphotericin B in Frage.

Histoplasmose und Coccidioidomykose sind wichtige opportunistische Infektionskrankheiten amerikanischer AIDS-Patienten.

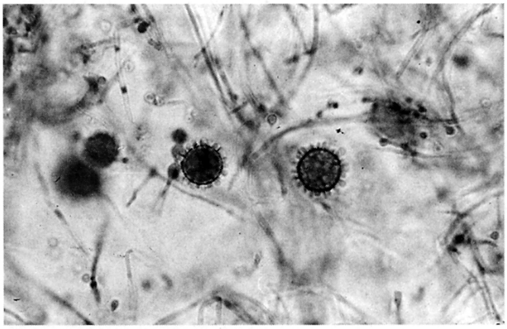


Abb. 8.11 Marokonidien von *Histoplasma capsulatum.*

Blastomyces dermatitidis

Blastomyces ist der Erreger der nordamerikanischen Blastomykose, die vor allem im Mittleren Westen der USA, aber auch in den Ostküsten-Staaten bis hinauf nach Kanada sowie in Afrika vorkommt. Ein Reservoir für die saprophytäre Schimmelform von *B. dermatitidis* sind die Erdhöhlen von Nagetieren. Die Infektion erfolgt über infizierten Staub, und die akute Erkrankung durch die Hefeform tritt als Pneumonie mit hohem Fieber, Husten, Auswurf und Infiltraten auf. Die chronische Form ist ein granulomatöser, herdförmiger Lungenbefall, der wie eine Tuberkulose oder ein Lungenkarzinom imponiert. Außerdem kann es zur Metastasierung in die Haut mit der Bildung von Mikroabszessen und Fisteln kommen. Die chronisch-granulomatösen Veränderungen können aber auch in den Knochen, in der Milz, der Leber und den Lymphknoten auftreten.

Blastomyces kann aus Sputum, Eiter oder Biopsiematerial mikroskopisch und/oder kulturell nachgewiesen werden; für das kulturelle Wachstum benötigt er 10–14 Tage.

Paracoccidioides brasiliensis

Der Pilz kommt in Südamerika vor; die Erkrankung wird deshalb als südamerikanische Blastomykose bezeichnet. Sie tritt oft erst nach einer langen Latenz, die bis zu 10 Jahre nach der Infektion betragen kann, in Erscheinung und manifestiert sich vor allem in der Mundhöhle in Form von Geschwüren, Stomatitis und Zahnausfall. Ein primärer Lungenbefall verläuft meist symptomlos. Später kommt es zur hämatogenen Ausbreitung im Körper mit Absiedelungen in Milz, Leber, Knochenmark und Haut. Wenn im Verlauf dieser Disseminierung die Lunge befallen wird, ist die Prognose infaust. Bei AIDS-Patienten, die aus Südamerika kommen, muß auch an diese Infektion gedacht werden.

Die **Diagnose** wird durch den mikroskopischen und/oder den kulturellen Nachweis des Pilzes gestellt. Dabei ist bei 37 °C auf multiple Sprossung der hefeähnlichen Zellen zu achten, die dann mikroskopisch an eine Margeriten-Blüte erinnern; serologische Reaktionen oder Hautteste gibt es nicht.

Zur **Therapie** wird bei beiden Formen der Blastomykose Itraconazol und in schweren Fällen Amphotericin B eingesetzt.

überschreiten. Aflatoxin M1 tritt in die Milch über; 1 kg Milch darf höchstens 0,05 µg enthalten, 1 kg Säuglingsnahrung nur 0,01 µg.

Außer den Aflatoxinen sind heute ca. 120 weitere Mykotoxine bekannt, und man weiß auch, daß einerseits nicht alle Stämme einer Pilzart, die im Prinzip toxinbildend ist, das Gift bilden und andererseits ein bestimmtes Toxin nicht nur von einer Pilzart gebildet wird. So können Aflatoxine z.B. von *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus* produziert werden, Ochratoxine von *Aspergillus ochraceus* und *Penicillium viridicatum,* Sterigmatocystin von *Aspergillus versicolor* und *A. nidulans*, Patulin u.a. von verschiedenen *Penicillium*-Arten sowie Trichothecene von *Fusarium*- und *Stachybotrys*-Arten.

Von den **Ochratoxinen** ist das Ochrotoxin A am wichtigsten. Es wurde 1970 als Ursache für die hohe Inzidenz einer Nephritis bei Schweinen in Dänemark entdeckt und wirkt auch beim Menschen nierenschädigend. Eine kanzerogene Wirkung konnte in Tierversuchen, aber bisher nicht beim Menschen festgestellt werden. Ochratoxin wird vor allem mit Kaffee aufgenommen, kommt aber auch in Getreideprodukten, Bier, Wein und Gewürzen vor. In der EU wird z.Zt. an einer Höchstmengenverordnung für Ochratoxin A gearbeitet. **Sterigmatocystin** ist kanzerogen; es kann in Fleisch- und Wurstwaren, Reis und Gewürzen vorkommen. **Patulin** wirkt als allgemeines Zellgift und ist kanzerogen; seine Bildung findet in faulendem Obst sowie in Fruchtsäften statt.

Der Nachweis von Mykotoxinen in Nahrungsmitteln erfolgt mittels chemischer Methoden, z.B. Dünnschichtchromatographie, Massenspektrometrie, Hochdruck-Flüssigkeitschromatografie.

Es ist schwierig, sich vor der Aufnahme von Mykotoxinen zu schützen. Da es sich um kleinmolekulare Substanzen handelt, werden sie beim Kochen nicht zerstört. Höhere Temperaturen beim Rösten von Erdnüssen konnten jedoch den Aflatoxingehalt senken. Verfahren zum Abbau der Mykotoxine in den Nahrungsmitteln werden erprobt. Am wichtigsten ist es, das Verschimmeln zu verhindern bzw. erkennbar verschimmelte Nahrungsmittel nicht zu essen.

Literatur

CAMPBELL, C. et al.: Identification of Pathogenic Fungi; London – Public Health Laboratory Service, 1996.

DE HOOG, G. S. and J. GUARRO: Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baarn and Delft and Universitat Rovira i Virgili, Reus, 1995.

FISHER, F. and N. B. COOK: Fundamentals of Diagnostic Mycology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1998.

JEHN, U. (Hrsg.): Klinische Mykologie. Landsberg: ecomed, 1997.

KWON-CHUNG, K. J. and J. E. BENNETT: Medical Mycology. Lea and Febiger, Philadelphia, 1992.

MANDELL, DOUGLAS and BENNETT's: Principles and Practice of Infectious Diseases 4. Ed. Churchill Livingstone, New York, 1995.

9

Allgemeine Medizinische Parasitologie

Hanns Martin Seitz, Walter A. Maier

10.1 Protozoen

Protozoen (Urtierchen) sind einzellige Lebewesen. Da ihr genetisches Material als DNA zusammen mit Histonen in einem membranumschlossenen Zellkern enthalten ist, unterscheiden sie sich von den Bakterien und gehören (mit den Pilzen) in die Gruppe der Eukaryoten.

Die Anpassungsfähigkeit der Protozoen an sehr unterschiedliche Lebensbedingungen ist groß. So ist es nicht verwunderlich, daß neben freilebenden auch parasitische Formen vorkommen. Der Bau der Protozoen gleicht in vielem der Säugetierzelle; zahlreiche Organellen wie Mitochondrien, GOLGI-Apparat, Ergastoplasma, Geißeln kommen in ähnlicher Weise vor. Daneben gibt es jedoch auch besondere Strukturen, die aus Säugerzellen nicht bekannt sind, z.B. der Kinetoplast der Trypanosomen und Leishmanien, der Apikalkomplex der Toxoplasmen und verwandter Arten, oder der Polschlauch der Mikrosporidien. Protozoen können auf inneren Oberflächen, z.B. der Darmschleimhaut des Wirtes leben, ohne in dessen Gewebe einzudringen *(Giardia, Pneumocystis);* sie können ins Gewebe penetrieren und dieses zerstören (Ruhramöben), oder sie leben sogar obligat intrazellulär (*Leishmania, Toxoplasma*) (Übersicht Tab. 10.1.).

Die Protozoen vermehren sich im allgemeinen durch Zweiteilung. Die Teilung der Zellkerne geht nicht selten der Teilung des Zytoplasmas voraus, so daß mehr- oder vielkernige Zwischenstadien entstehen (Schizonten bei der Malaria). Viele Protozoen bilden auch Gameten (z.B. Plasmodien, Toxoplasmen); bei anderen sind geschlechtliche Vermehrungsprozesse noch unbekannt.

Das Problem der Übertragung zwischen den Wirten lösen die Protozoen auf unterschiedliche

Tab. 10.1 Übersicht über wichtige Protozoonosen und Helminthosen

Parasitengruppen	Krankheitsbezeichnung	Verbreitung	minimale Präpatenz/ minimale Inkubation (Tage)
Protozoen			
Flagellaten			
Trichomonas vaginalis	Trichomoniasis	Kosmopolit	/ 3
Giardia lamblia	Lamblienruhr	Kosmopolit	/ 3
Trypanosoma cruzi	Chagaskrankheit	S-Amerika	/ 7
T. brucei gambiense	Schlafkrankheit	Afrika	/ 5
T. b. rhodesiense	Schlafkrankheit	Afrika	/ 5
Leishmania donovani mit Unterarten	Kala Azar (viszerale Leishmaniose)	MM., Asien S-Amerika, Afrika	/ 10
L. tropica, L. major	Hautleishmaniose	MM., Asien, Afrika	/ 6
L. brasiliensis und verwandte Arten	Schleimhautleishmaniose	S-Amerika	/ 10
Rhizopoden			
Entamoeba histolytica	Amöbenruhr	Kosmopolit	/ 6
E. coli, E. hartmanni	apathogene Amöben	Kosmopoliten	– / –
Naegleria fowleri u. a.	Primäre Amöbenmeningo-enzephalitis	? Kosmopolit	/ 3
Sporozoen			
Isospora belli	Kokzidiose	Kosmopolit	/ 1
Sarcocystis bovihominis, S. suihominis	Sarkosporidiose	Kosmopoliten	15 / 1
Cryptosporidium sp.	Kryptosporidiose	Kosmopolit	/ 4
Toxoplasma gondii	Toxoplasmose	Kosmopolit	/ 7
Plasmodium falciparum	Malaria tropica	Tropen	6 / 7
P. vivax	Malaria tertiana	Tropen, Subtropen	10 / 12
P. ovale	Malaria tertiana	Tropen	10 / 12
P. malariae	Malaria quartana	Tropen, Subtropen	/ 20
Ziliaten			
Balantidium coli	Balantidienruhr	Kosmopolit	/ –

Tab. 10.1 *(Fortsetzung)*

Parasitengruppen	Krankheitsbezeichnung	Verbreitung	minimale Präpatenz/ minimale Inkubation (Tage)
Helminthen			
Trematoden			
Schistosoma haematobium	Blasenbilharziose (urogenitale Schistosomiasis)	Afrika	70 / 50
S. mansoni	Darmbilharziose	Afrika, S-Amerika	40 / 15
S. japonicum	Darmbilharziose	O-Asien	20 / 14
Fasciola hepatica	Leberegelbefall	Kosmopolit	60 / 30
Opisthorchis felineus	Leberegelbefall	N-Europa, N-Asien	21 / –
Clonorchis sinensis	Leberegelbefall	O-Asien	21 / –
Paragonimus-Arten	Lungenegelbefall	Asien, Afrika, S-Amerika	65 / –
Zestoden			
Diphyllobotrium latum	Fischfinnenbandwurmbefall	Kosmopolit	21 / –
Taenia saginata	Rinderfinnenbandwurmbefall	Kosmopolit	60 / –
T. solium	Schweinefinnenbandwurm-befall, Zystizerkose	Kosmopolit	60 / –
Echinococcus granulosus	zystische Echinokokkose	Kosmopolit	– / –
E. multilocularis	alveoläre Echinokokkose	M-Europa, N-Asien, N-Amerika	– / –
Nematoden			
Enterobius vermicularis	Madenwurmbefall	Kosmopolit	35 / –
Trichuris trichiura	Peitschenwurmbefall	Kosmopolit	30 / –
Ascaris lumbricoides	Spulwurmbefall	Kosmopolit	58 / 10
Ancylostoma duodenale	Hakenwurmbefall	Tropen, Subtropen	35 / –
Necator americanus	Hakenwurmbefall	Tropen, Subtropen	35 / –
Strongyloides stercoralis	Zwergfadenwurmbefall	Kosmopolit	17 / –
Trichinella spiralis	Trichinellose	Kosmopolit	/ 5
Wuchereria, (Brugia)	lymphatische Filariosen	Tropen	250 / 90
Onchocerca volvulus	Onchozerkose (Flußblindheit)	Afrika, S-Amerika	360 / –
Loa loa	Loiasis (Kalabarschwellung)	Afrika	180 / 70
Dracunculus medinensis	Medinawurmbefall	Afrika	360 / 360

Verbreitung: Verständlicherweise sind nur sehr pauschale Angaben möglich.
Abkürzungen : N = Norden, O = Osten, S = Süden, M = Mittel-, MM = Mittelmeergebiet

Präpatenz(zeit): Ein wichtiger, aber nicht immer genau zu definierender Begriff in der Parasitologie. Die Zeitspanne zwischen der Infektion durch den Parasiten und dem Auftreten von Vermehrungsstadien, z.B. im Stuhl, Harn, Blut. Davon ist streng zu unterscheiden die
Inkubation(szeit): als die Spanne zwischen der Infektion und dem Auftreten von Krankheitserscheinungen.
Beispiel: Die Entwicklung des Spulwurms im Menschen dauert mindestens 58 Tage, weil eine Reihe von Entwicklungsstadien durchlaufen werden muß, bevor geschlechtsreife Tiere ausgebildet sind, die Eier produzieren können. War die Infektionsdosis, d.h. die Zahl der bei der Infektion aufgenommenen Eier hoch, können aber die Larven bei ihrer Wanderung durch die Lunge bereits um den 10. Tag klinische Erscheinungen verursachen. In diesem Fall ist die Präpatenz länger als die Inkubation - eine ungünstige Situation für die Diagnose; denn der direkte Parasitennachweis kann vor Ablauf der Präpatenz in der Regel nicht geführt werden.
Nicht in allen Fällen lassen sich ausreichend gesicherte Angaben machen; z.T. sind die in der Literatur genannten Zahlen sehr widersprüchlich, so daß die in der Tabelle genannten Zeitspannen manchmal nur der groben Orientierung dienen können.

Weise. Viele bilden Dauerstadien (Zysten), die gegen Umwelteinflüsse sehr widerstandsfähig sind und im Freien längere Zeit überdauern können, bis sie oral von einem Wirt aufgenommen werden. Viele Protozoen sind jedoch mit zwei Wirten vergesellschaftet, einer ist dann häufig ein blutsaugender Arthropode, der bei der Nahrungsaufnahme die Parasiten mit hoher Wahrscheinlichkeit auf den zweiten Wirt überträgt.

Definition einiger in der Protozoologie verwendeter Begriffe

Gamont (Mikro-Gamont: männl.; Makrogamont: weibl.; syn. Gametozyten): geschlechtliche Form des Parasiten, aus dem die **Gameten** (Mikro- und Makrogameten) hervorgehen.
Meront: ungeschlechtliche Teilungsform mit mehreren Zellkernen, syn. Schizont.
Merozoit: Einzelparasit, der aus einem Meronten hervorgegangen ist.
Schizont: s. Meront
Trophozoit: ungeschlechtliche, einkernige Wachstumsform.
Zyste: von einer Zystenwand eingeschlossener Parasit oder Parasitenansammlung, meist relativ langlebig und widerstandsfähig.

10.1.1 Flagellaten

Die medizinisch wichtigen Geißeltierchen haben eine oder mehrere relativ lange **Geißeln** (Flagellum), die der Fortbewegung dienen. Sie entsprechen in ihrem Bau nicht den Bakteriengeißeln. Sie haben einen Durchmesser von ungefähr 250 nm und enthalten Mikrotubuli, von denen neun Paare im Kreis und zwei einzelne zentral angeordnet sind.
Beim Menschen sind Vertreter der Flagellaten als harmlose Kommensalen, als Erreger mit

sten in Beziehung zum Kern können bei den Parasiten dieser Gruppe verschiedene Formen (Polymorphismus) unterschieden werden, die jeweils für bestimmte Entwicklungsstadien der einzelnen Parasiten charakteristisch sind (Abb. 10.1.):

1. Amastigote Form: rund bis oval. In dem relativ kleinen Zellkörper liegen Zellkern und Kinetoplast nahe beisammen. Eine äußerst kurze Geißel ist vorhanden, im Lichtmikroskop meist nicht sicher zu erkennen (kryptomastigot). Typische intrazelluläre Form der *Trypanosomatidae*.
2. Promastigote Form: spindelförmig. Kinetoplast am Vorderende. In der Regel lange freie Geißel.
3. Epimastigote Form: spindelförmig, Kinetoplast nahe („auf") dem Zellkern. Lange Geißel, z.T. mit undulierender Membran (s. bei **4.**).
4. Trypomastigote Form: spindelförmig, Kinetoplast am hinteren Ende des Zelleibs. Lange Geißel, die mit der Zelloberfläche (Pellicula) verbunden ist und diese bei der wellenförmigen Bewegung als undulierende Membran mitnimmt. Ein Teil der Geißel kann frei sein.

Sowohl Trypanosomen als auch Leishmanien sind als Parasiten bei den Säugetieren weit verbreitet. Die Mehrzahl der für die Humanparasitologie wichtigen Arten wird aus einem Tierreservoir auf den Menschen übertragen, d.h. diese Erkrankungen sind Zoonosen.

Trypanosoma brucei gambiense und

Schranke und kann deshalb nicht mehr verwendet werden, wenn es zum ZNS-Befall gekommen ist. Dann müssen dreiwertige Arsenpräparate vom Typ des Melarsoprol eingesetzt werden. Diese Verbindungen sind toxisch. Die Behandlung einer Schlafkrankheit erfordert deshalb besondere Erfahrung.

Trypanosoma cruzi, Erreger der südamerikanischen Trypanosomiasis, Chagaskrankheit

Der Parasit ist von der Verbreitung bestimmter Raubwanzen (Reduviiden) abhängig, die als Überträger dienen und nur in Mittel- und Südamerika vorkommen. Ein breites Wirtsspektrum, z.B. Hund, Katze, Opossum, schließt auch den Menschen ein.

Morphologie und Entwicklung. Der Parasit hält sich zwar als trypomastigote Form (Länge etwa 20 μm) im peripheren Blut auf, er vermehrt sich aber ausschließlich intrazellulär. Die trypomastigoten Formen dringen bevorzugt in Herz- und Extremitätenmuskelzellen ein, wandeln sich in amastigote (Abb. 10.6, Farbtafeln) um, teilen sich als solche mehrfach und werden dann wieder zu trypomastigoten Flagellaten, die die inzwischen zerstörten Zellen verlassen und ins Blut übertreten, wo sie von den Wanzen beim Saugen wieder aufgenommen werden können. Der Mensch wird nicht direkt durch den Stich infiziert, sondern durch den Kot der Wanze, den diese während der Blutmahlzeit absetzt und der Trypanosomen enthalten kann. Die Erreger können zwar die intakte Haut nicht durchdringen, werden aber vielfach in die Stichwunde oder auch in die Schleimhäute des Auges eingerieben. In Südamerika wird zunehmend häufiger die Übertragung durch Bluttransfusionen beobachtet.

Klinische Erscheinungen: Ein akutes Stadium mit unregelmäßigem Fieber, Lymphadenopathie, Hepatosplenomegalie und manchmal einer einseitigen Schwellung des periorbitalen Gewebes (ROMAÑAsches Zeichen) tritt meist nur bei Kindern auf. Bei Erwachsenen kommt es von Anfang an zu einem mehr protrahierten chronischen Verlauf, der durch eine zunehmende Herzinsuffizienz gekennzeichnet ist. Außerdem werden Megabildungen des Magen-Darmkanals (Megaösophagus, Megagaster, Megakolon) in einigen Gegenden Südamerikas beobachtet. Die Prognose quoad vitam ist bei Kindern ungünstig, bei Erwachsenen abhängig vom Virulenzgrad des Erregers und der Konstitution des Patienten.

Diagnose. Während der akuten Phase der Infektion, die meist einige Wochen dauert, lassen sich die trypomastigoten Formen im Dicken Tropfen, selten im Blutausstrich nach GIEMSA-Färbung mikroskopisch nachweisen. In der Regel ist die Parasitendichte sehr gering. Im chronischen Stadium ist die Serodiagnostik zu empfehlen, dabei haben sich vor allem indirekter Immunfluoreszenztest und Latex-Test als zuverlässig erwiesen.

Chemotherapie. Zur Behandlung eignen sich Nifurtimox und Benznidazol, jedoch werden nur im akuten Stadium befriedigende Ergebnisse erzielt. Die Behandlungsdauer beträgt 6 Wochen bis 3 Monate.

Leishmania, Erreger der Leishmaniosen

Die taxonomische Zuordnung der verschiedenen *Leishmania-Arten* zueinander und auch zu den Krankheitsbildern ist nicht abgeschlossen. Moderne analytische Methoden, wie Isoenzymbestimmungen, DNA-Hybridisierung, die Analyse von Oberflächeneigenschaften, haben herkömmliche Einteilungen der *Leishmania*-Arten und der Krankheitsbilder relativiert. Ein Erreger kann, abhängig von der Immunitäts- und Resistenzlage des Wirts, unterschiedliche klinische Bilder hervorrufen. Hier kann deshalb nur eine vereinfachende Darstellung gegeben werden.

Morphologie und Entwicklung. Die Entwicklungszyklen der *Leishmania*-Arten sind einander sehr ähnlich. Im Wirbeltierwirt, so auch im Menschen, kommt ausschließlich die intrazelluläre amastigote Form (Größe 2–5 μm) vor. Im Zytoplasma liegt neben dem Zellkern der sich meist kräftig anfärbende Kinetoplast (Abb. 10.1 und 10.7), der für eine mikroskopische Identifizierung sicher erkannt werden muß. Die Parasiten leben und vermehren sich in den Zellen des reti-

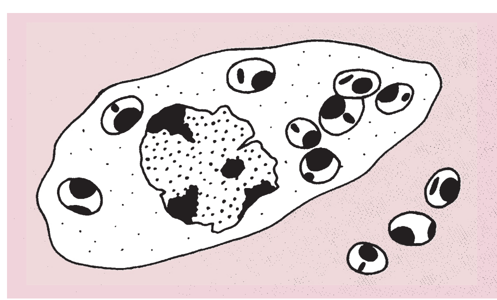


Abb. 10.7 *Leishmania donovani*. Wirtszelle aus einem Milztupfpräparat. Durch die mechanische Einwirkung bei der Herstellung des Präparats als Artefakt auch extrazellulär liegende Parasiten.

le Leishmaniose oder, bei Verdacht auf eine kutane Form, Punktate aus dem Rand der Haut- und Schleimhautläsionen. Auch in histologischen Päparaten ist der Nachweis möglich. Die Kultur der Parasiten in Spezialmedien kann ebenfalls versucht werden. Serologische Verfahren sind nur bei der viszeralen Leishmaniose ausreichend zuverlässig. Wie meist in der Parasitologie ist es empfehlenswert, mehrere Verfahren zu kombinieren, um eine möglichst große diagnostische Sicherheit zu erreichen.

Chemotherapie. Zur Behandlung eignen sich Verbindungen des fünfwertigen Antimons (z.B. Pentostam®, Glucantime®) und Pentamidine, außerdem Amphotericin B in Liposomen.

Giardia lamblia, syn. Lamblia intestinalis, Erreger der Lamblienruhr, Giardiasis

Morphologie und Entwicklung. Lamblien sind weltweit verbreitete Parasiten, die im oberen Dünndarm des Menschen leben. Die Trophozoiten (10–20 µm) (Abb. 10.10) haben in der Aufsicht einen tropfenförmigen Umriß, von der Seite gesehen sind sie abgeflacht. Im vorderen Teil tragen sie auf der Unterseite eine leicht konkave Saugscheibe. Mit dieser heften sie sich an der Oberfläche des Dünndarmepithels an. Die Trophozoiten sind mit vier Geißelpaaren ausgerüstet, die der Fortbewegung im flüssigen Milieu dienen. Zwei ovale Kerne mit auffallenden Nukleolen und zwei stäbchen- bis sichelförmige Körper, gewöhnlich als Parabasal- oder Mediankörper bezeichnet, geben den Trophozoiten ein charakteristisches Aussehen. Sie sind in wäßrig-durchfälligen Stühlen zu beobachten. Neben diesen vegetativen Formen existieren ovale Zysten (10–15 µm), die mit geformtem Stuhl ausgeschieden werden. Die Zysten lassen vier Zellkerne und kurze Geißelanteile erkennen. Die Infektion wird durch Zysten von Individuum zu Individuum übertragen; fäkalkontaminiertes Wasser dürfte die gewöhnlichste Infektionsquelle sein, auch können Fliegen Zysten oral aufnehmen und mit dem Kot auf der Nahrung absetzen. In den letzten Jahren ist im Ausland mehrfach ein epidemisches Auftreten von Infektionen des Menschen beobachtet worden, die über die Trinkwasserversorgung zustande kamen. In der Mehrzahl der Fälle führen Lamblieninfektionen nicht zu krankhaften Erscheinungen, doch können bei massenhafter Vermehrung der Parasiten schwere, meist wäßrige Durchfälle auftreten. Unklar ist, wie diese zustande kommen, denn die Parasiten dringen nicht in die Schleimhaut ein. Denkbar wäre, daß Resorptionsvorgänge im Darm gestört werden, wenn Lamblien die Oberfläche der Schleimhaut durch dichten Besatz blockieren. Diskutiert wird auch die Produktion von Toxinen, vielleicht im Zusammenwirken mit einer Virusinfektion bzw. mit einer abnormen Darmflora.

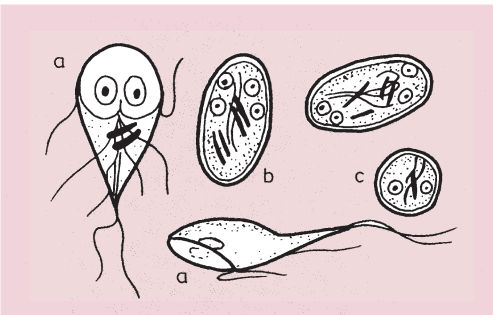


Abb. 10.10a–c *Giardia lamblia.* a) Trophozoiten; b)

Diagnose. Dazu genügt häufig die mikroskopische Nativuntersuchung des Stuhls. Die Trophozoiten fallen durch ihren Geißelschlag bzw. die ruckartig taumelnde Bewegung auf. Zysten findet man bei geringem Befall meist erst nach Anwendung eines Konzentrationsverfahrens.

Chemotherapie. Als Chemotherapeutika sind 5-Nitroimidazole die Mittel der Wahl. Eine mehrfache Behandlung kann erforderlich sein.

Trichomonas vaginalis, Erreger der Trichomoniasis

Morphologie und Entwicklung. *Trichomonas vaginalis* besiedelt Schleimhäute und Drüsen des weiblichen und männlichen Urogenitaltrakts. Die Trophozoiten (Abb. 10.11; Abb. 10.12, Farbtafeln) haben eine spitzovale Gestalt, 10–24 µm Durchmesser und einen Achsenstab, der etwas über den hinteren Zellpol hinausragt. Am vorderen Zellpol liegen der Zellkern sowie Parabasalfilament (Parabasalkörper) und eine Gruppe von Basalkörnern, von denen Geißeln ausgehen, vier nach vorn, eine nach hinten gerichtet. Diese begleitet eine kurze undulierende Membran, die am Zellrand entlang zieht und in Bewegung den Eindruck einer Zahnraddrehung vermittelt.

Die **Übertragung** von Mensch zu Mensch kommt beim Kontakt der Genitalschleimhäute

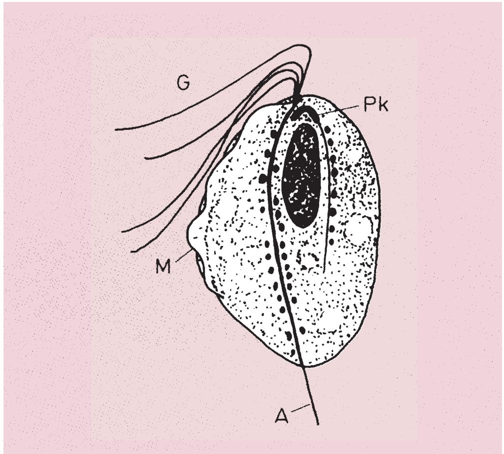


Abb. 10.11 *Trichomonas vaginalis*-Trophozoit. A: Axostyl; G: Geißeln; M: undulierende Membran; Pk: Parabasalkörper.

Übertragungswege wie Badewäsche, feuchte Toilettensitze oder das Wasser in öffentlichen Schwimmbädern werden aus verständlichen Gründen immer wieder diskutiert, sind aber nie zweifelsfrei bewiesen worden und bei der großen Empfindlichkeit der *T. vaginalis*-Trophozoiten nicht wahrscheinlich. Einzelne Parasiten können unter besonders günstigen Umweltbedingungen, z.B. in Thermalwasser mit einem Salzgehalt von annähernd physiologischer Zusammensetzung, bis zu 5 h überleben, doch ist auch dann eine Infektion nicht zu erwarten. Zysten, also Dauerformen, gibt es nicht. *T. vaginalis* wird bei 8–12 % der Frauen im gebärfähigen Alter bzw. bei 20–30% der Patientinnen mit entzündlichen Erkrankungen im Genitalbereich gefunden, bei gesunden Männern jedoch nur in 2–5%. Dieser Unterschied dürfte hauptsächlich durch den im Vergleich schwierigeren Parasitennachweis beim Mann bedingt sein.

Klinische Erscheinungen. Die pathogenetische Bedeutung von *T. vaginalis* wird unterschiedlich beurteilt. Ob der Parasit allein eine Kolpitis, eine Prostatitis, Balanitis oder Urethritis hervorrufen kann oder nur in Verbindung mit bakteriellen Infektionen, ist nicht eindeutig geklärt. Eine nachgewiesene Infektion sollte jedoch immer behandelt werden, auch wenn eine gravierende Symptomatik fehlt, wie das bei etwa einem Drittel der Trichomonadeninfizierten der Fall ist. Bei der Frau kann es neben Rötungen des Genitale zum Auftreten eines weißlich-grünlichen Fluors und zu starkem Juckreiz und Schmerzen kommen. Beim Mann können ähnliche Symptome auftreten; der Ausfluß aus der Urethra hat meist ein glasiges Aussehen.

Diagnose. Der einfachste und schnellste Parasitennachweis ist durch die direkte mikroskopische Untersuchung von Fluor oder Urethrasekret zu führen; häufig muß das entnommene Material in etwas Kochsalz aufgeschwemmt werden. Vor allem die Untersuchung im Phasenkontrast hat sich bewährt. Unbedingt ist auf die typische, eigenständige, taumelnd ruckartige Bewegung der Parasiten und auf die Geißeln zu achten, sonst besteht die Gefahr einer nicht selten folgenschweren Verwechslung mit Leukozyten. Geringe Parasitenzahlen lassen sich mikroskopisch nicht nachweisen. Ein empfindlicheres Verfahren ist die Kultur in Spezialmedien, wenn deren Eignung laufend überwacht wird.

Chemotherapie. 5-Nitroimidazole wie Metronidazol, Ornidazol, Tinidazol u.a. haben sich gut bewährt.

Extragenital gibt es mehrere **apathogene *Trichomonas*-Arten:** *T. hominis* und *T. fecalis* im Darm, *T. tenax* in der Mundhöhle.
In die Verwandtschaft der Trichomonaden wird heute auch die apathogene „Amöbe“ *Dientamoeba fragilis* gestellt.

10.1.2 Rhizopoden

Entamoeba histolytica, Erreger der Amöbiasis

Im Darm des Menschen können mehrere Amöbenarten leben: *Entamoeba histolytica*, *E. dispar*, *E. hartmanni*, *E. coli*, *Jodamoeba bütschlii* und *Endolimax nana*. Nur *E. histolytica* ist ein fakultativ pathogener Parasit, die übrigen Amöbenarten rufen keine Erkrankung hervor.
E. histolytica und *E. dispar* wurden bisher als eine Art betrachtet, weil sie mikroskopisch-morphologisch nicht zu unterscheiden sind. Neuere Untersuchungen (Isoenzym-, DNA- und RNA-Analysen) haben jedoch deutliche Unterschiede ergeben, die eine Neubeschreibung gerechtfertigt erscheinen ließen. Neben die zur Gewebsinvasion befähigte und damit potentiell pathogene *E. histolytica* wurde die obligat apathogene *E. dispar* gestellt.

E. histolytica ist weltweit verbreitet. Die Durchseuchung ist bei den Bewohnern tropischer Länder am höchsten, doch sind auch bei den Indianern im Norden Kanadas hohe Infektions- und Erkrankungsraten gefunden worden. In

10

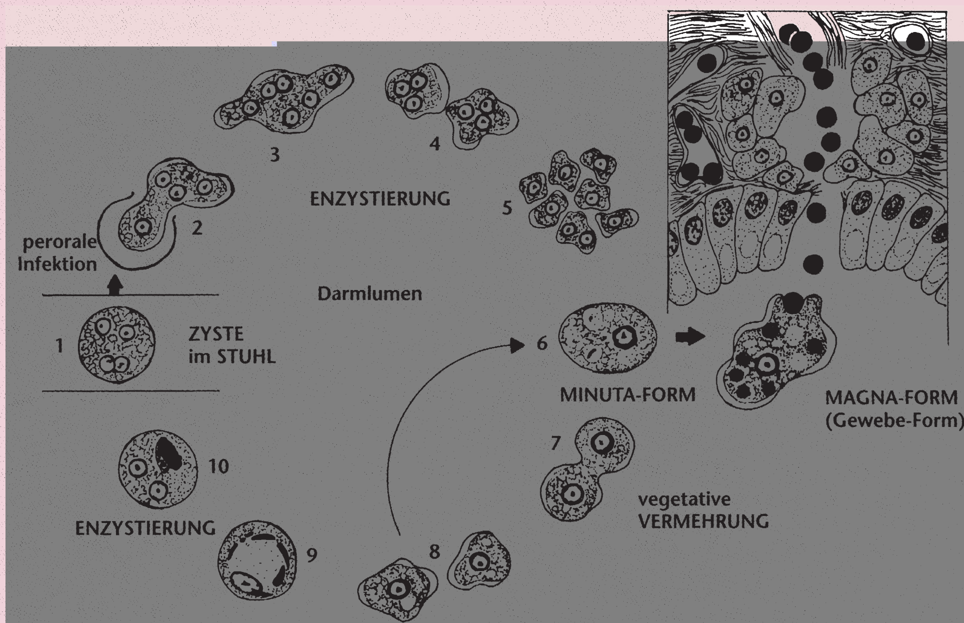


Abb. 10.14 *Entamoeba histolytica.* Beziehung zwischen Darmlumenform (Minutaform), Zyste und Gewebeform (hämatophage Magnaform); *1* reife 4-kernige Zyste; *2–5* freiwerdende Minutaform; *6* Minutaform und hämatophage Magnaform, die zur invasiven Darmamöbiasis führt; *7–8* Vermehrung der Minutaform; *9–10* Zystenbildung aus der Minutaform, unreife Zysten mit Chromidialkörperchen.

Schleimbeimengungen sind sehr charakteristisch für eine Amöbeninfektion des Darms. Wenn das Gewebe der Darmwand befallen ist, können die Amöben auch in Blut und Lymphgefäße eindringen und in andere Organe verschleppt werden. Auch dort führen sie zur Einschmelzung von Gewebe. Es bilden sich Amöbenabszesse. Diese sind in der Leber am häufigsten; nicht selten entstehen sie, ohne daß die Infektion des Darmes zuvor klinisch in Erscheinung getreten wäre.

Diagnose. Die beiden Formen der Amöbeninfektion, die asymptomatische **Darmlumeninfektion** und die aggressive **Gewebsinfektion,** verlangen ein unterschiedliches diagnostisches Vorgehen. Wenn es festzustellen gilt, ob sich ein Reisender bei einem Aufenthalt in tropischen Gebieten eine Amöbeninfektion zugezogen hat, so wird man Zysten im Stuhl erwarten und suchen. Da diese Zysten Dauerformen sind, muß der Stuhl für die Untersuchung nicht frisch sein. Er kann durchaus auf dem normalen Postweg versandt werden. Soll jedoch bei einem Patienten mit gastrointestinalen Störungen, vor allem mit Blut- und Schleimbeimengungen geklärt werden, ob eine **invasive Amöbeninfektion** vorliegt, so kann dies durch Nachweis der invasiven Magnaformen geschehen (Abb. 10.16). Als recht hinfällige Gebilde sind sie jedoch nur für

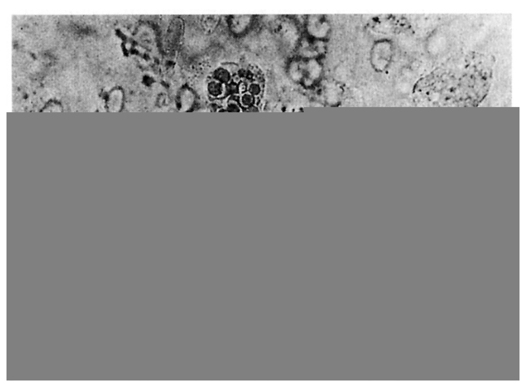


Abb. 10.16 *Entamoeba histolytica.* Magnaformen mit phagozytierten roten Blutkörperchen und Pseudopodien (*P*) aus dem frischen, blutig-schleimigen Stuhl bei einer Amöbenruhr.

30–60 min im Stuhl nachzuweisen, dann gehen sie zugrunde und können nicht mehr erkannt werden. Die parasitologische mikroskopische Untersuchung muß deswegen bald nach Absetzen des Stuhls vorgenommen werden. Der Stuhl soll jedoch nicht eigens warmgehalten werden, da dies ein Überwachsen durch Bakterien fördert und die Frist für den Nachweis der Amöben verkürzt. Ist eine unmittelbare Untersuchung nicht möglich, so kann behelfsweise blutig-schleimiges Material in Formaldehyd fixiert und zur Untersuchung eingesandt werden.

Bei der invasiven Amöbiasis kommt es in der Regel zur Stimulation des Immunsystems und damit zur Bildung von Antikörpern. Ihr Nachweis, der grundsätzlich mit verschiedenen Methoden (indirekte Immunfluoreszenz, Komplementbindungsreaktion, ELISA) möglich ist, kann diagnostisch entscheidend sein, wenn z.B. die Natur eines intrahepatischen Abszesses geklärt werden muß. Bei einer Amöbiasis ohne Leberbeteiligung fallen die serologischen Reaktionen nicht immer positiv aus.

Chemotherapie. Als Mittel der Wahl sind die Medikamente aus der Gruppe der 5-Nitroimidazole anzusehen (Metronidazol, Tinidazol, Or-

Endprodukte der geschlechtlichen Entwicklung sind die sogenannten **Sporozoiten,** die zur Infektion des Menschen führen. Sie gelangen bei den zu den Haemosporidien gehörenden Malariaerregern durch den Mückenstich, bei den Kokzidien per os über die sehr widerstandsfähigen *Oozysten* bzw. *Sporozysten* auf den Menschen.

Sarcocystis bovihominis und S. suihominis, Erreger der Sarkosporidiose

Morphologie und Entwicklung. Diese *Sarcocystis*-Arten vermehren sich ungeschlechtlich im Rind bzw. im Schwein. Sie bilden in der Muskulatur der Tiere **Zysten,** die auch als **MIESCHERsche Schläuche** bezeichnet werden. Sie enthalten viele Einzelparasiten. Nach Verzehr von infiziertem Fleisch setzen die Parasiten ihre Entwicklung im Dünndarmepithel des Menschen fort und bilden Geschlechtsformen, die Gamonten. Nach Befruchtung entstehen **Oozysten,** in denen sich **Sporozysten** (2 pro Oozyste) mit den für das Rind bzw. Schwein infektiösen **Sporozoiten** entwickeln (Abb. 10.17). Diese Stadien werden mit dem Kot ausgeschieden und führen über kontaminiertes Futter zur Infektion der Haustiere.

Die Entwicklung im Menschen verläuft stets intrazellulär in der Lamina propria des Dünndarms. Oozysten können über viele Monate ausgeschieden werden.



Isospora belli, Erreger der Darmkokzidiose

Isospora belli hat im Gegensatz zu den Sarkosporidien einen direkten Übertragungsweg von Mensch zu Mensch. Die mit dem Kot ausgeschiedenen **Oozysten** müssen sich zunächst im Freien zu infektiösen Formen weiterentwickeln. Werden sie vom Menschen aufgenommen, vermehren sie sich ungeschlechtlich in den Zellen des Darmepithels. Außerdem werden Gamonten (Vorstadien der Gameten) und **Gameten,** nach Befruchtung schließlich wieder Oozysten gebildet, die im Stuhl erscheinen.
Meist bestehen Durchfälle, die sich als recht hartnäckig erweisen können, zumal zuverlässig wirksame Medikamente nicht bekannt sind. In einigen Fällen ist nach der Gabe von Sulfonamiden und Dihydrofolatreduktasehemmern eine Besserung eingetreten.

Cryptosporidium spec., Erreger der Kryptosporidiose

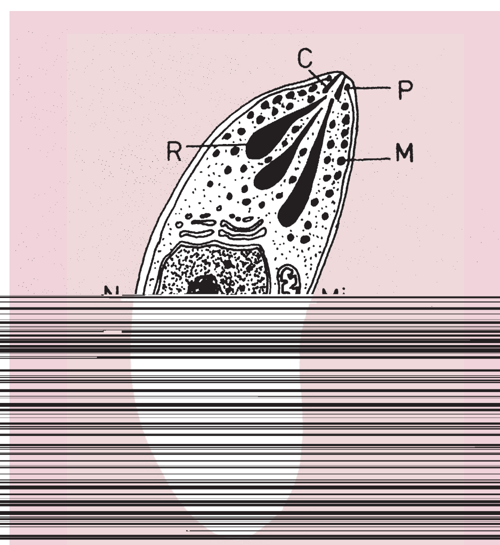
Kryptosporidien sind bei vielen Säugetier- und Vogelarten gefunden worden, wobei unsicher ist, ob stets dieselbe Art vorliegt. Tierärzte kennen diesen Parasiten *seit langem* als Erreger einer schweren Durchfallerkrankung bei Kälbern. Beim Menschen sind die Parasiten zunächst nur vereinzelt, zunehmend häufiger aber, vor allem im Ausland, auch epidemieartig aufgetreten. In Deutschland wurde jedoch in den letzten Jahren eine durch Kryptosporidien bedingte Diarrhoe als häufige Komplikation bei AIDS-Fällen beobachtet. Die Parasiten leben eingebettet im Mikrovillussaum der Darmepithelzellen (in der „Microplica", intrazellulär, aber nicht intrazytoplasmatisch!) und vermehren sich dort durch Schizogonie und Gamogonie. Vom Infizierten werden **Oozysten** ausgeschieden, die nur 3–5 µm messen.
Klinik: Auch im Immunkompetenten kann es nach der Infektion zu einer kurzzeitigen Vermehrung der Parasiten und zu Durchfällen

Pilzen muß dabei vermieden werden. Eine wirksame **Chemotherapie** ist bisher nicht bekannt.

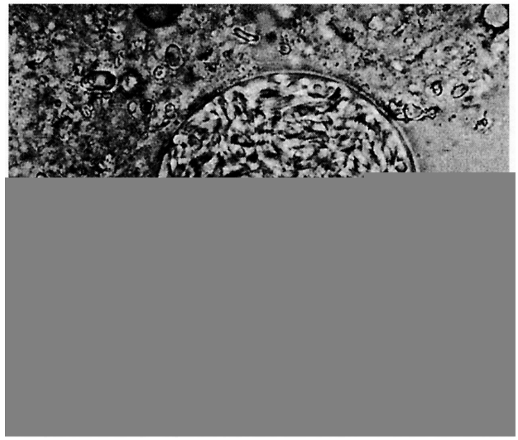
Toxoplasma gondii, Erreger der Toxoplasmose

Morphologie und Entwicklung. *Toxoplasma gondii* (Abb. 10.19) ist ein obligat intrazellulärer Parasit. Die Trophozoiten haben meist eine leicht gekrümmte Form (toxon = Bogen). Sie sind etwa 5–6 µm lang und 3–4 µm breit. In der GIEMSA-Färbung stellt sich deutlich ein roter Zellkern in blauem Zytoplasma dar (Abb. 10.20 und 10.21, Farbtafeln). Toxoplasmen sind ungewöhnlich weit verbreitet. Viele Säugetierarten, auch der Mensch, ja selbst Vögel können ihnen als Zwischenwirt dienen.

Nimmt der Mensch Toxoplasmen auf, dringen sie in Zellen ein, bevorzugt in solche des retikulohistiozytären Systems. Sie vermehren sich durch eine besondere Art der Zweiteilung, durch **Endodyogenie.** Dabei entstehen zwei Tochterzellen innerhalb der Mutterzelle, die sich auflöst. Im Zytoplama der Wirtszelle sind die Trophozoiten in eine sogenannte **parasitophore Vakuole** eingeschlossen. Nach vielen Teilungsschritten ist die Zelle vollständig von Parasiten ausgefüllt. Sie wird dann als **Pseudozyste** bezeichnet, weil die Parasitenansammlung nicht von einer echten Zystenwand, sondern nur vom Plasmalemma der Zelle um-



10



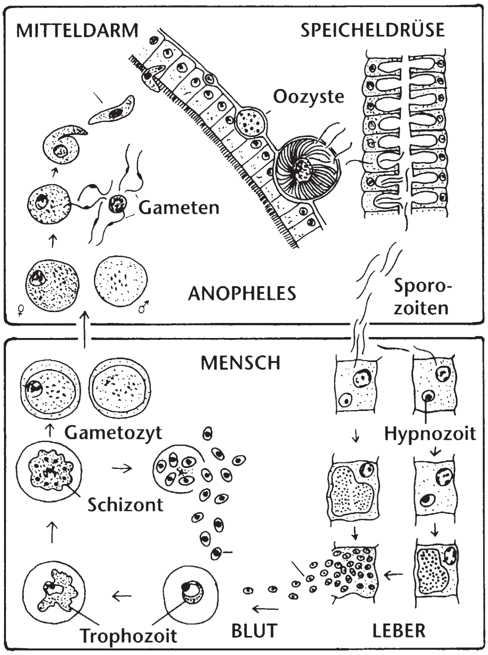


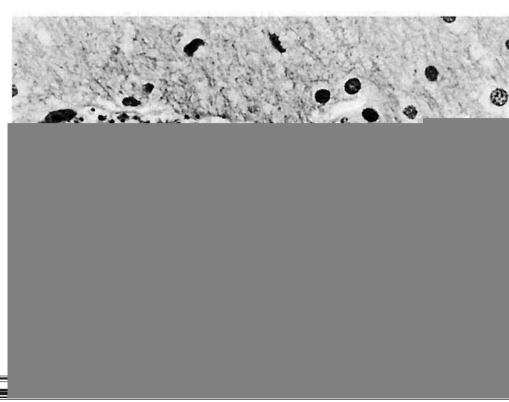
Abb. 10.26 Malaria-Zyklus. Zugrunde gelegt ist der Zyklus von *Plasmodium vivax*. Der Zyklus von *P. falciparum* verläuft ähnlich, es fehlen jedoch die Hypnozoiten; die Gametozyten sind halbmondförmig.

möglich ist. In sehr seltenen Fällen kann die Malaria auch ohne Fieber oder sogar mit subnormalen Körpertemperaturen einhergehen (wahrscheinlich bei Befall der Temperaturzentren im Dienzephalon).

Der **Malariaanfall,** der für die Tertiana und Quartana typisch ist, beginnt während eines abrupten Fieberanstiegs mit Schüttelfrost; dieser schlägt in ein Hitzegefühl um, dem ein profuser Schweißausbruch folgt. In diesem Stadium normalisiert sich die Körpertemperatur wieder. Sie bleibt in normaler Höhe bis zum nächsten Anfall, der bei der typischen Tertiana am übernächsten Tag (3. = Tertiana), bei der Quartana noch einen Tag später (4. = Quartana) folgt. Die Fieberanfälle kommen dadurch zustande, daß sich die Parasiten nach einer Anfangsphase mit unregelmäßigem Fieber synchron vermehren. Das heißt, sie durchlaufen zum selben Zeitpunkt das-

Plasmodium falciparum,
Erreger der Malaria tropica

Die Malaria tropica ist eine gefährliche Erkrankung. Sie kann innerhalb von wenigen Tagen zum Tod des Infizierten führen. Die Gefährlichkeit der Parasiten läßt sich aus einer pathophysiologischen Besonderheit ableiten. In der Membran des roten Blutkörperchens, in dem der *P. falciparum*-Parasit heranwächst, treten kleine Verdichtungen auf (sog. „knobs"). Sie enthalten wahrscheinlich unter anderem Parasitenantigen. Ihre Zahl nimmt mit fortschreitender Parasitenentwicklung zu, so daß bei Schizonten die Oberfläche des roten Blutkörperchens schließlich dicht besetzt ist. Diese Veränderungen führen dazu, daß befallene rote Blutkörperchen an die Oberfläche von Gefäßendothelien adhärieren. Es kommt deshalb in den Kapillaren zu einer Verlegung des Gefäßlumens (Abb. 10.27) mit der Folge von Ischämien im abhängigen Gebiet. Besonders anfällig ist das sauerstoffbedürftige Gehirn. Klinisch ist für die sog. zerebrale Malaria eine zunehmende Bewußtseinstrübung typisch, die sich schnell zum Koma vertiefen kann. Die Prognose solcher Fälle, die fast ausschließlich nach einer verspäteten Diagnose zu beobachten sind, ist schlecht. Die Kumulation der reiferen Parasitenstadien in den Kapillargebieten erklärt auch, warum bei der Malaria tropica neben den Gametozyten fast nur frühe Stadien, d.h. kleine Trophozoiten („Ringformen"), im peripheren Blut gefunden werden.



***Plasmodium vivax* und *P. ovale*, Erreger der Malaria tertiana**

Plasmodium vivax und *P. ovale* verursachen nicht nur weitgehend identische Krankheitsbilder, sondern sie haben auch eine Reihe von parasitologischen Ähnlichkeiten. Am wichtigsten sind die beiden Arten gemeinsamen **Hypnozoiten.** Diese Stadien können sich neben den die Entwicklung in der Leber sofort durchlaufenden Parasiten bilden. Sie entwickeln sich, nachdem sie sich in der Leber etabliert haben, nicht mehr weiter, sie „schlafen" gewissermaßen. Erst nach längerer Zeit nehmen sie die Entwicklung wieder auf. Sie sind Grundlage für Malariafälle mit primär langer Latenz oder auch für Rückfälle, die Wochen oder Monate, in seltenen Fällen sogar bis zu 5 Jahre nach der Infektion auftreten können. Besonders *P. vivax*-Stämme, die aus subtropischen und gemäßigten Gebieten stammen (Korea, Rußland), zeigen eine ausgeprägte Hypnozoitenbildung.

Der typische Tertianafieberrhythmus (ein fieberfreier Tag zwischen zwei Anfällen) tritt in der Regel nicht sofort zu Beginn der Erkrankung auf. Mehrere Tage kann zunächst unregelmäßiges Fieber bestehen. Ein Quotidianafieber ist zu beobachten, wenn sich um 24 h phasenverschoben zwei Parasitenpopulationen nebeneinander entwickeln.

***Plasmodium malariae*, Erreger der Malaria quartana**

Die Quartana ist eine recht seltene Form der Malaria. Eine Besonderheit ist, daß die Erreger, nachdem der Infizierte die Primärerkrankung mit eventuellen Rückfällen hinter sich gebracht hat, Jahre, sogar Jahrzehnte im Blut persistieren können, allerdings in so geringer Zahl, daß sie bei einer mikroskopischen Blutuntersuchung nicht zu finden sind. Entdeckt werden solche Infektionen erst dann, wenn der Infizierte Blut spendet und sich die Parasiten im neuen Wirt, der noch keine Abwehr erworben hat, vermehren (Transfusionsmalaria).

In endemischen Gebieten kann *P. malariae* bei Kindern eine ungewöhnliche Form der Glomerulonephritis mit schlechter Prognose verursachen.

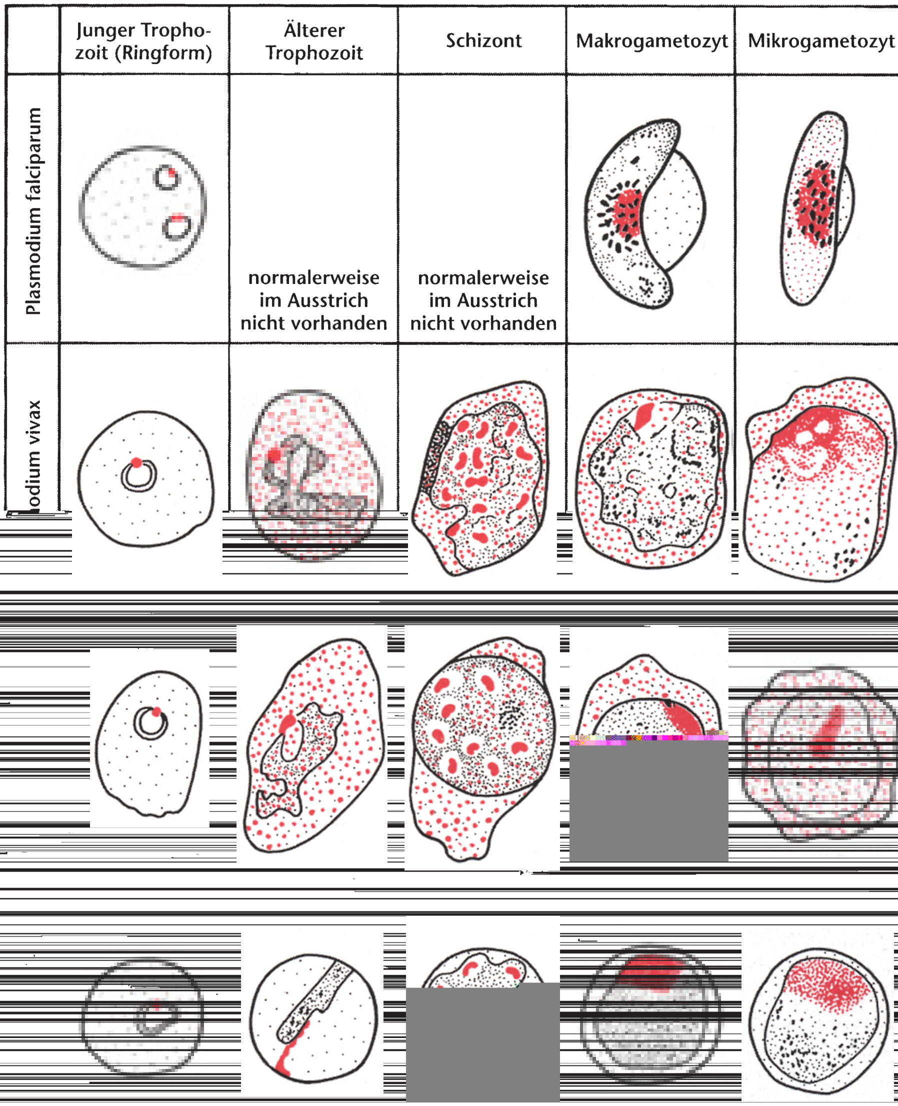
Diagnose. Nur der mikroskopische Nachweis der Plasmodien im Blut sichert die Diagnose einer Malaria (Abb. 10.28). Bei höherer Parasitendichte im peripheren Blut können die Plasmodien, ein sorgfältiges Durchmustern der Präparate vorausgesetzt, **im gefärbten Blutausstrich,** wie er für das Differentialblutbild verwendet wird, gefunden werden. Die Untersuchung eines Dicken Tropfens erhöht die Wahrscheinlichkeit einer positiven Diagnose bei geringer Parasitendichte im Blut, sie setzt aber Erfahrung voraus. Wenn Untersuchungsmaterial an Spezialinstitute eingeschickt wird, sollten dies stets mehrere Ausstriche und Dicke Tropfen sein.

Anfertigung eines Dicken Tropfens: Ein kleines Tröpfchen Nativblut (kein EDTA-Blut, kein Heparinblut) wird auf einen Objektträger gebracht und mit Hilfe der Ecke eines zweiten Objektträgers unter kreisenden Bewegungen zu einer Fläche von etwa 1 cm Durchmesser ausgebreitet. Dieses Verrühren ist wichtig für das gute Haften der Blutschicht auf dem Objektträger. Man läßt das Präparat trocknen und schickt es unfixiert ein. Zur Färbung der Plasmodien ist eine Reihe von Methoden geeignet, bewährt hat sich besonders die GIEMSA-Färbung, die nach korrekter Durchführung *(pH-Wert 7,2 !)* das Zytoplasma der Parasiten blau und das Chromatin rot färbt.

Der serologische Nachweis von Antikörpern gegen Malariaparasiten ist zwar möglich, für die Diagnostik einer akuten Malaria jedoch ohne Bedeutung; denn bei der Malaria tropica kann sich ein gefährliches klinisches Bild schneller entwickeln als diagnostisch signifikante Antikörperspiegel. **Die Diagnose „Malaria" beruht auf dem mikroskopischen Parasitennachweis.**

Ausschließlich dem Nachweis des „histidin rich protein 2" (P.f. HRP2) von *P. falciparum* dient ein immunochromatographischer Vollblut-Schnelltest z.B. ParaSightF-Test®, MalaQuick® oder MASTA®, der somit zum behelfsmäßigen Ausschluß einer M. tropica dienen kann.

Chemotherapie. Ein Medikament, das gleichzeitig gegen alle Stadien der Malariaparasiten im Menschen ausreichend wirksam wäre, ist nicht bekannt. Für die klinische Heilung einer Malaria genügt es, die asexuellen Formen im Blut zu beseitigen. Als uneingeschränkt wirksame Medikamente konnten über Jahrzehnte die 4-Aminochinoline, z.B. das Chloroquin (Resochin®), gelten. In den letzten Jahren haben sich jedoch in einigen Malariagebieten (Abb. 10.35) Stämme von *P. falciparum* ausgebreitet, die vermindert (Resistenzgrad R1 und R 2) oder nicht mehr (R3) auf die bisher übliche Behandlung mit 4-Aminochinolinen ansprechen. Auch bei *P. vivax* gibt es erste Fälle von Chloroquinresistenz. Andere Therapeutika sind z.B. Kombinationen von Pyrimethamin mit Sulfonamiden (z.B. Fansidar ®, das aber wegen der Gefahr schwerer Nebenwirkungen nur noch beschränkt einsatzfähig


Junger Trophozoit (Ringform)
Älterer Trophozoit
Schizont
Makrogametozyt
Mikrogametozyt
Plasmodium falciparum
normalerweise im Ausstrich nicht vorhanden
normalerweise im Ausstrich nicht vorhanden

10



Vermutlich ist *P. carinii* im immunkompetenten Organismus ein harmloser Kommensale in den Luftwegen. Wenn jedoch das Immunsystem unreif ist (Früh- und Neugeborenene), nach immunsupprimierender Behandlung oder durch eine HIV-Infektion geschädigt ist, kann es zu einer explosionsartigen Vermehrung der Parasiten in den Alveolen kommen. Das Alveolarlumen wird dann von massenhaft Zysten, leeren Zystenhüllen, Trophozoiten sowie Leukozyten und losgelösten Alveolarzellen ausgefüllt. In der Regel breitet sich der Prozeß über größere Teile der Lunge aus und führt zu lebensbedrohlichen Ventilationsstörungen (*P. carinii*-Pneumonie). Klinisch charakteristisch sind die zunehmende Dyspnoe, das Fieber und ein unproduktiver Husten.

Für den **diagnostischen Nachweis** der Erreger muß Material aus dem Alveolarraum zur Verfügung stehen. Dieses wird nicht mit dem ohnehin

gewöhnlich in die Darmschleimhaut ein und führt bei starker Vermehrung (Querteilung) zur Bildung von Geschwüren, die aber nur ausnahmsweise bis in die Muskelschicht penetrieren. Die Infektion kann symptomlos bleiben. Wenn klinische Symptome auftreten, gleichen diese ganz denen einer Amöbiasis.

Diagnose. Sie wird durch den mikroskopischen Nachweis der Erreger im Stuhl oder in Schleimhautproben gestellt. Zur Behandlung haben sich Tetrazykline und das Metronidazol bewährt.

10.1.6 Microspora

Mikrosporidien

Die obligatorisch intrazellulär lebenden Parasiten sind im ganzen Tierreich verbreitet, vor allem bei Arthropoden und Fischen, aber auch bei Säugern. Sie sind sehr ursprüngliche Eukaryoten, weil sie keinen GOLGI-Apparat und keine Mitochondrien besitzen. In neuerer Zeit häufen sich Infektionen bei immunsupprimierten Patienten.

kommen Infektionen fast ausschließlich bei immungeschwächten Patienten vor. Eine mikroskopische Unterscheidung von *E. hellem* ist nicht möglich. Als Durchfallerreger relativ häufig bei AIDS-Patienten beschrieben ist *Enterocytozoon bieneusi.* Weder das Artenspektrum der Mikrosporidieninfektionen des Menschen noch deren Herkunft, d.h. deren natürliches Wirtsspektrum, sind jedoch bisher wirklich geklärt.

10.2 Helminthen

Würmer oder Helminthen sind vielzellig. Je nach Gruppenzugehörigkeit besitzen sie unterschiedlich gebaute Organsysteme, z.B. einen Verdauungstrakt, männliche und weibliche Geschlechtsorgane, ein Nervensystem und ein Integument. Die parasitischen Würmer gehören zwei großen Tierstämmen (Phyla) an, dem der Fadenwürmer (Phylum **Nematoda)** und dem der Plattwürmer (Phylum **Plathelminthes).** Zu den Plathelminthen gehören die wichtigen Klassen der Saugwürmer **(Trematoda)** und der Bandwürmer **(Cestoda).**

Die Lebenszyklen der Würmer sind sehr unterschiedlich. Neben einfachen Entwicklungsgängen gibt es besonders bei den Trematoden äußerst komplizierte Zyklen, an denen neben dem Endwirt auch mehrere Zwischenwirte beteiligt sind. Infektionen mit parasitischen Würmern unterscheiden sich in einem wichtigen Gesichtspunkt von den Infektionen mit Protozoen: Von wenigen Ausnahmen abgesehen vermehren sich die Würmer im Menschen nicht; d.h. wenn sich nach der oralen Aufnahme von einigen *Ascaris*-Eiern beispielsweise drei Wurmindividuen im Darm des Menschen einnisten, dann bleibt es bei dieser Zahl von Parasiten, es sei denn, daß durch weitere Infektionen neue Würmer hinzukommen. In aller Regel bestimmt die Zahl der vorhandenen Parasiten, ob klinische Symptome auftreten. Es gibt daher Wurminfektionen, die wegen der wenigen vorhandenen Parasiten keine Beschwerden machen. Klinisch relevante Infektionen entstehen meist durch eine massive einmalige Infektion oder durch mehrfache Infektionen mit geringen Dosen. Seit langem ist bekannt, daß mit Wurminfektionen häufig eine Vermehrung der eosinophilen Leukozyten verbunden ist. Nicht nur im peripheren Blut ist der Anteil der Eosinophilen erhöht – nicht selten der erste Hinweis auf eine bestehende Wurminfektion – sondern die eosinophilen Granulozyten fallen auch in den entzündlichen Infiltraten auf, die sich um Würmer oder ihre Produkte, z.B. Eier bilden. In-vitro-Versuche haben gezeigt, daß eosinophile Leukozyten bei Anwesenheit von spezifischen Antikörpern Wurmlarven, z.B. Schistosomula, schädigen oder töten können. Dabei kommt es zur Degranulation der Eosinophilen. Nicht sicher ist jedoch, ob sie auch in vivo eine wesentliche Rolle bei der Parasitenabwehr spielen.

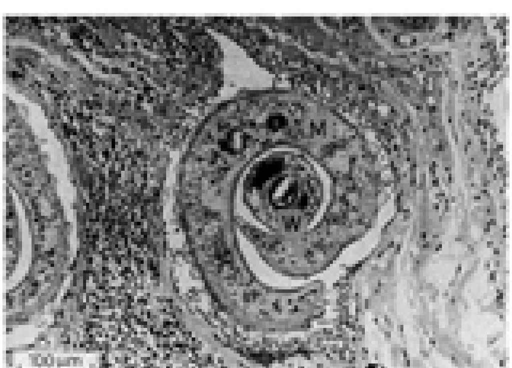
10.2.1 Trematoden (Saugwürmer)

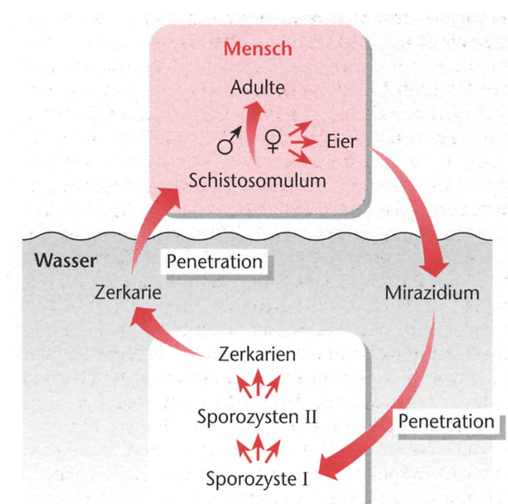
Die Bezeichnung Saugwürmer beruht auf dem Vorhandensein von zwei Saugnäpfen, einem Bauchsaugnapf, der nur Haltefunktion hat, und einem Mundsaugnapf, der mit dem Ösophagus und den beiden Darmschenkeln in Verbindung steht. Die Körperoberfläche der Trematoden besteht aus einem Tegument, dessen oberste Schicht von einem Synzytium gebildet wird. Diese zelluläre Oberflächenstruktur ermöglicht es den Trematoden, Stoffe aus dem sie umgebenden Milieu zu absorbieren. Die Trematoden sind, von den Schistosomen abgesehen, Zwitter. Jedes Individuum enthält einen vollständigen männlichen und weiblichen Geschlechtstrakt. Die Lebenszyklen der Trematoden sind sehr komplex. Als Zwischenwirte dienen meist Wasserschnecken. In diesen reifen Stadien heran, die entweder den Endwirt direkt infizieren, z.B. bei *Schistosoma*, oder die zunächst einen zweiten Zwischenwirt befallen, z.B. bei *Clonorchis.*

Schistosoma, Erreger der Bilharziose (Schistosomiasis)

Die in der Humanparasitologie wichtigsten Trematodeninfektionen sind die verschiedenenen Formen der Bilharziose oder Schistosomiasis. Man schätzt 200 Millionen Infizierte auf der Welt. Ihre Zahl nimmt zu, weil Bewässerungsprojekte und Dammbauten den Zwischenwirten neuen Lebensraum verschaffen und damit die Ausbreitung der Parasiten begünstigen.

Morphologie und Entwicklung. Die erwachsenen Würmer sind 1–2 cm lang; sie leben in den Venen des Bauchraums und des kleinen Beckens (s. Tab.10.3). Der Körper des Männchens ist flach, die seitlichen Körperränder werden jedoch übereinandergeschlagen, so daß eine Röhre entsteht (Canalis gynaecophorus), in der das Weibchen lebt (Abb. 10.37, Farbtafeln; Abb. 10.38). In den Eiern, die je nach Art im Stuhl oder Urin ausgeschieden werden, befindet sich eine kleine Larve, das **Mirazidium** (Abb. 10.39). Bei Kontakt mit Süßwasser schlüpft dieses Mirazidium und schwimmt mit Hilfe von zahlreichen Zilien im Wasser umher, bis es eine als Zwischenwirt geeignete Schnecke findet. In diese Schnecke dringt es ein und verwandelt sich in ein neues Stadium, die Sporozyste. Aus einer Muttersporozyste entwickeln sich mehrere Tochtersporozysten. Diese befallen das Hepatopankreas der Schnecke und bringen eine neue


100 µm


Mensch
Adulte
♂
♀
Eier
Schistosomulum
Wasser
Penetration
Zerkarie
Mirazidium
Zerkarien
Sporozysten II
Penetration
Sporozyste I

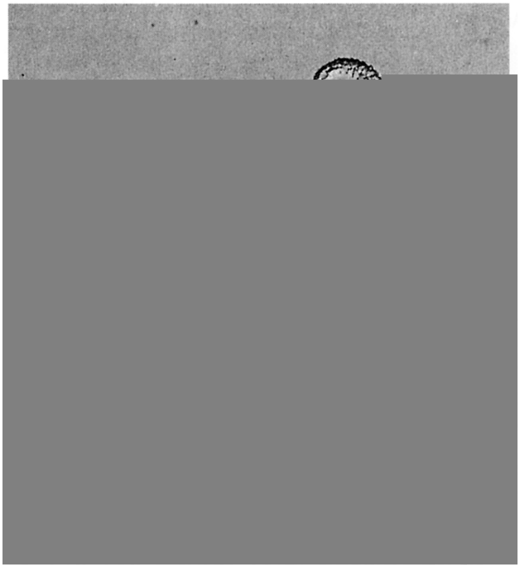


Abb. 10.40 *Schistosoma mansoni*. Leicht kontrahierte Zerkarie, die sich mit dem Bauchsaugnapf (*BS*) an der Unterlage festgesaugt hat. Nach oben zeigt der gegabelte Ruderschwanz.

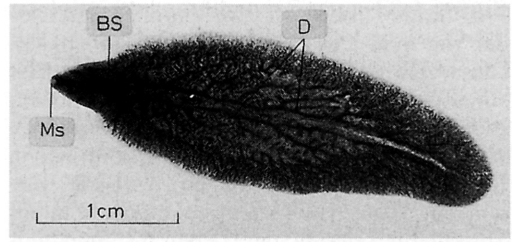
vor. Um die Eier bildet sich ein kleines zelluläres Infiltrat, u.U. sogar ein winziger Abszeß. Die entzündlichen Gewebsreaktionen sind das Vehikel, das es einem Teil der Eier ermöglicht, bis unter die Schleimhaut der Blase und schließlich ins Blasenlumen vorzudringen. Mit Entzündungszellen und Blut werden die Eier im Urin ausgeschieden. Hämaturie und Leukozyturie sind neben Miktionsbeschwerden wichtige Sym-

es zu entzündlichen Reaktionen um die Eier. Nach etwa drei Wochen sind die Eier abgestorben. Nachdem weitere Zeit verstrichen ist, bildet sich im Leberparenchym an der Stelle des Granuloms eine kleine fibröse Narbe. Werden viele Eier in die Leber eingeschwemmt, so führt der langsame fibrotische Umbau der Leber zu einem portalen Hochdruck, da die intrahepatische Strombahn eingeengt wird. Caput medusae und Aszites sind äußere Zeichen dieses Zustandes. Ösophagusvarizen können der Anlaß für eine tödliche Blutung sein. Man muß annehmen, daß die Stämme von *S. mansoni* in ihrer Pathogenität sehr differieren, denn die Schwere der Erkrankung und die Häufigkeit von Komplikationen zeigt große geographische Unterschiede.

Schistosoma japonicum, Erreger der asiatischen Darmbilharziose

Die Pathogenese gleicht weitgehend der der *S. mansoni*-Infektion, doch sind zwei Besonderheiten wichtig: *S. japonicum* lebt im Bereich der Vena mesenterica superior, außerdem sind die Weibchen besonders produktiv. Die lebernahe Lokalisation und die Freisetzung großer Eizahlen machen die *S. japonicum*-Infektion zu einer besonders gefährlichen Bilharzioseform.

Diagnose. Der mikroskopische Nachweis der Eier ist im Urinsediment (*S. haematobium*) bzw. im Stuhl (*S. mansoni, S. japonicum*) vor allem nach Anwendung von Konzentrationsverfahren möglich. In bioptisch entnommenen Gewebeproben (Schleimhautbiopsien aus der Blase oder dem Rektum) lassen sich ebenfalls Eier nachweisen, manchmal sogar, wenn Stuhl- bzw. Urinuntersuchungen negativ waren. Das Gewebe


BS
D
Ms
1cm



Proglottiden lösen sich vom Wurm ab und werden mit dem Kot ausgeschieden (Abb. 10.46). Nimmt ein geeigneter **Zwischenwirt** diese Eier auf, so schlüpft im Darm eine kleine kugelförmige, sechs Haken tragende Larve **(Onkosphäre).** Sie bohrt sich durch die Darmwand, dringt in Blutgefäße ein und wird im Kreislauf verschleppt. Je nach Art setzt sich die Larve in der Muskulatur oder in der Leber fest und entwickelt sich zu der sogenannten **Finne,** die, wenn die befallenen Organe vom Endwirt verzehrt werden, diesen wiederum infiziert. Der Entwicklungszyklus der Bandwürmer ist ein typischer **Räuber-Beute-Zyklus,** wobei der Fleischfresser den Adultwurm im Darm beherbergt, während das potentielle Beutetier Träger der Larve im Gewebe ist (s. Tab.10.4).

Diagnose. Die darmbewohnenden Bandwürmer werden durch die Identifikation abgegangener Proglottiden oder durch die mikroskopische Untersuchung des Stuhls auf Eier nachgewiesen. Serologische Reaktionen spielen in der Diagnostik dieser Erkrankungen keine Rolle, sind aber sehr wichtig bei der Diagnose der Larvenstadien von Echinococcus und Taenia (Zystizerkus, s.u.) im Gewebe.

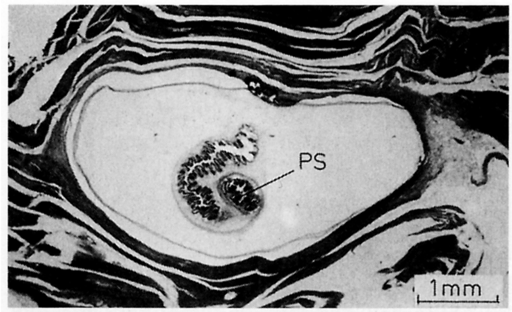
Tab. 10.4 Wirt-/Zwischenwirtbeziehungen der Bandwürmer (Zestoden)

Adultwurm Darmparasit	Larve (Finne) Gewebeparasit
im Menschen: *Taenia saginata* (Rinderfinnenbandwurm)	Rind
Taenia solium (Schweinefinnenbandwurm)	Schwein
	im Menschen: Zystizerkose
im Hund: *Echinococcus granulosus*	Wiederkäuer
	im Menschen: zystische Echinokokkose
im Fuchs: *Echinococcus multilocularis*	Nager
	im Menschen: alveoläre Echinokokkose

Taenia saginata (Rinderfinnenbandwurm)

Morphologie und Entwicklung. Der Rinderbandwurm ist der bei uns häufigste Bandwurm. Er lebt im Dünndarm. Seine Länge beträgt mehrere Meter (siehe Abb. 10.44, Farbtafeln); als Rarität wird von Exemplaren mit mehr als 20 m Länge berichtet. Der Scolex trägt keinen Hakenkranz. Die graviden Proglottiden (s. Abb. 10.45) sind etwa 2 × 1 cm groß, sie verändern ihre Form und Größe aber infolge einer peristaltikartigen Eigenbeweglichkeit, die es ihnen erlaubt, umherzukriechen. Häufig werden sie deshalb irrtümlich für selbständige Würmer gehalten. Die Eier (Abb. 10.47, Farbtafeln) werden zum Teil durch Muskelkontraktionen aus den Proglottiden ausgetrieben, zum Teil werden sie nach dem Zerfall der Proglottiden freigesetzt. Zwischenwirt ist das Rind, das die Eier beim Weiden aufnimmt. Die Larve etabliert sich in der Muskulatur des Rindes und bildet die Finne, einen sogenannten **Zystizerkus** (Abb. 10.48,




PS
1mm

Echinococcus-Arten (Hunde- und Fuchsbandwürmer)

Während der Mensch für den Rinder(*finnen*) bandwurm und den Schweine(*finnen*)bandwurm (die Namensgebung richtet sich in diesen Fällen nach dem Zwischenwirt!) der Endwirt ist, ist er für die *Echinococcus*-Arten biologisch gesehen ein Zwischenwirt, funktionell allerdings nur dort, wo Leichen von hunde- oder katzenartigen Raubtieren gefressen werden können. Die Adultwürmer sind nur wenige Millimeter lang. Sie leben, meist in großen Zahlen, in die Dünndarmschleimhaut ihrer Wirte eingebettet. Zwei *Echinococcus*-Arten sind in der Humanparasitologie besonders wichtig: *Echinococcus granulosus* und *E. multilocularis*.

Echinococcus granulosus (Hundebandwurm), Erreger der zystischen Echinokokkose

Morphologie und Entwicklung. Der erwachsene Wurm wird ungefähr 6 mm lang (Abb. 10.50). Meist sind drei Proglottiden vorhanden, die letzte nimmt etwa die Hälfte der Gesamtlänge ein. Endwirte sind Hunde bzw. hundeartige Raubtiere. Zwischenwirte für *E. granulosus* sind das Schaf und eine Reihe von anderen Huftieren wie Schwein, Rind, Kamel, seltener das Pferd. Sie werden, wie der Mensch, infiziert durch orale Aufnahme der Eier, die vom Hund ausgeschieden werden. Die Larve sitzt in der Regel in der Leber. Andere Lokalisationen wie Lunge oder Gehirn kommen vor. Es bildet sich eine flüssigkeitsgefüllte Zyste **(Hydatide)** (Abb. 10.51, Farbtafeln), die Kindskopfgröße erreichen kann. Die Zystenwand (Abb. 10.52) besteht aus mehreren Schichten, einer äußeren Bindegewebsschicht, die vom Wirt gebildet ist, einer laminierten Membran („Cuticula“) und einer Keimschicht, die dem lebenden Wurmgewebe entspricht. Etwa ein halbes Jahr nach der Infektion bringt



Abb. 10.50 *Echinococcus granulosus (E.g.)* und *E. multilocularis (E.m.)*. Adulte Würmer.

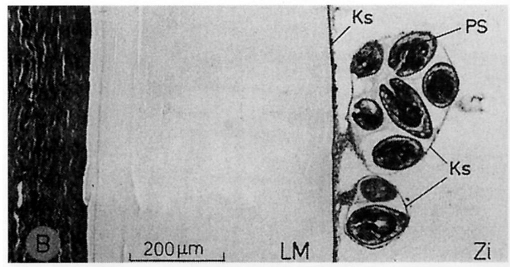


Abb. 10.52 *Echinococcus granulosus*. Schnitt durch die Zystenwand. *B* Bindegewebe (Wirt); *Ks* Keimschicht; *LM* laminierte Membran ("Cuticula"). Zysteninneres (*Zi*). Der Keimschicht sitzen 2 Brutkapseln auf, in denen 6 bzw. 2 Protoscolices (*PS*) angeschnitten sind.

die Keimschicht Knospen hervor, in denen sich Kopfanlagen (Protoscolices) differenzieren. Als kleine Granula sitzen diese Brutkapseln dann der Innenseite der Zystenwand auf. Jede Brutkapsel enthält, von einer dünnen Lage Keimmembran eingehüllt, zahlreiche Protoscolices. Neben fertilen Zysten, d.h. Zysten, die, wenn sie vom Endwirt verzehrt werden, diesen infizieren, kommen auch sterile Zysten vor, in denen keine Protoscolices gebildet werden. Nicht selten entstehen auch Tochterzysten im Inneren einer großen umhüllenden Zyste.

Klinische Erscheinungen. Die Larve des *E. granulosus*, die der Kliniker meist als „Echinococcus cysticus“ bezeichnet, tritt beim Menschen vor allem in der Leber (60% der Fälle) und der Lunge (25%) auf. Andere Organe werden ebenfalls befallen; besonders zu erwähnen ist das Gehirn, ebenso wie der gleichzeitige Befall mehrerer Organe. Die klinischen Erscheinungen entsprechen denen eines verdrängend wachsenden Tumors und sind von der Lokalisation der Zyste abhängig (z.B. Druckgefühl im Oberbauch, Ikterus, Thoraxschmerz, Husten mit Auswurf, Lähmungen, Erblindung).

Diagnose. In vielen Fällen lassen die bildgebenden Verfahren (Sonographie, Röntgenuntersuchung, Computertomographie) eine weitgehend sichere Diagnose zu. Sie sollte durch den serologischen Nachweis von Antikörpern (indirekte Immunfluoreszenz, indirekte Hämagglutination, ELISA) erhärtet werden, da differentialdiagnostisch auch Zysten nichtparasitärer Genese in Frage kommen. Selbstverständlich kann ein Echinokokkus auch durch die mikroskopische Untersuchung von Punktionsmaterial diagnostiziert werden, doch ist die **Punktion der Zyste mit einem erheblichen Risiko belastet**. Bei

Platzen der Zyste kann das frei werdende Antigen einen allergischen Schock auslösen, außerdem kann die Verschleppung von proliferationsfähiger Keimmembran Metastasen des Wurms, z.B. eine Aussaat im Peritonealraum, hervorrufen.

Therapie. Wenn immer möglich, sollte der Parasit chirurgisch vollständig entfernt werden. Hierfür sind verschiedene Operationsverfahren entwickelt worden. Bei inoperablen Fällen kann eine **Chemotherapie** mit Mebendazol, *Albendazol* oder verwandten Verbindungen versucht werden. Die Indikation für eine Chemotherapie muß allerdings wegen der zu erwartenden Nebenwirkungen und weil meist nur ein Teil der Parasiten am Weiterwachsen gehindert wird, sorgfältig abgewogen werden.

Echinococcus multilocularis (Fuchsbandwurm), Erreger der alveolären Echinokokkose

Der Adultwurm lebt im Fuchs, jedoch können auch Hund und Katze befallen werden (Abb. 10.50). Normale Zwischenwirte sind Nagetiere (Feld- und Schermäuse, Bisamratten). Sie werden wie der Mensch durch die orale Eiaufnahme infiziert. Fast stets ist die Leber von der Larve befallen. Im Gegensatz zu *E. granulosus* bildet sich jedoch keine geschlossene Zyste, sondern eine Larve, die wie ein maligner Tumor infiltrativ wächst. Das Keimepithel bildet Fortsätze, die das Lebergewebe durchsetzen. Kleine Hohlräume, in denen sich die Protoscolices differenzieren, und die der Larve eine an Lungengewebe erinnernde Struktur geben, werden erst später gebildet. Wegen ihrer zerstörerischen Potenz ist die alveoläre Echinokokkose eine außerordentlich gefährliche Infektion, vor allem, weil sie in der Regel entdeckt wird, wenn die Gewebszerstörung schon weit fortgeschritten ist.

Auch hier ist die chirurgische Entfernung der Wurmlarve die beste Behandlung, sie ist jedoch in vielen Fällen nicht vollständig möglich. Es ist dann eine Chemotherapie mit Mebendazol, *Albendazol* oder ähnlichen Medikamenten zu versuchen.

10.2.3 Nematoden (Rundwürmer)

Die Nematoden sind mit vielen tausend Arten eine der erfolgreichsten Gruppen des Tierreiches. Neben freilebenden Arten existieren saprophage, pflanzenparasitische und tierparasitische Arten.

Morphologie und Entwicklung. Der Körperbau der Nematoden ist sehr einheitlich:

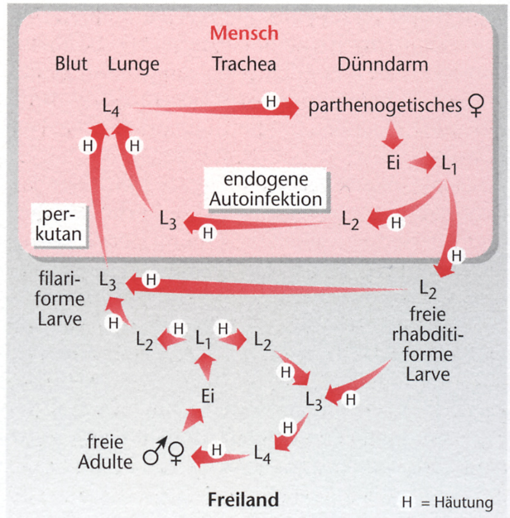
Ein langgestreckter, meist drehrunder Körper („Rundwürmer") ist von einer dreischichtigen azellulären Cuticula und der darunterliegenden synzytialen Hypodermis bedeckt. Die Cuticula weist oft besondere Strukturen auf, z.B. Buckel, Höcker, ringförmige Rillen. An der Hypodermis setzen die Längsmuskeln an, eine Ringmuskulatur fehlt. Die typische schlängelnde Bewegung der Nematoden entsteht durch Kontraktion der Längsmuskeln gegen die Elastizität des prall gefüllten Körpers. Nematoden besitzen Mund und After. Um die Mundöffnung können Gebilde wie die Zähne und Platten der Hakenwürmer angeordnet sein. Der Vorderdarm ist mit einer kräftigen Muskulatur ausgestattet. Die Cuticula ist nur wenig dehnungsfähig, daher häuten sich Nematoden im Laufe ihrer Entwicklung mehrfach. Bei den meisten Arten konnten vier Häutungen nachgewiesen werden. Der typische Nematodenzyklus führt vom Ei über vier Larvenstadien (L1–L4) zu den geschlechtsreifen Adultwürmern. Eine Unterscheidung der **rhabditiformen Larven** (L1, L2), die einen von einem Nervenring eingeschnürten Ösophagus haben, von der **filariformen Larve** (L3), die schlanker gebaut ist und einen sehr langen Ösophagus besitzt, erweist sich oft als zweckmäßig. Nematoden sind immer getrenntgeschlechtlich. Die Männchen besitzen nur einen einfachen Genitaltrakt, bestehend aus Hoden, Vas deferens, Samenblase und Ductus ejaculatorius. Bei den Weibchen ist der Genitaltrakt paarig angelegt (Ausnahmen: *Trichinella* und *Trichuris*). Aus dem Ovar leitet der Ovidukt in den Uterus über. Beide Uterusäste münden in die Vulva. Im Ovidukt findet nach der Befruchtung die Bildung der häufig mehrschichtigen Eihülle statt. Wegen des hohen Lipoproteinanteils sind Nematodeneihüllen sehr widerstandsfähig gegen hydrophile Desinfektionsmittel. Am Schalenaufbau sind ferner chitinartige Verbindungen und durch Phenoloxidasewirkung vernetzte Proteine beteiligt.

Der Entwicklungszyklus der parasitischen Nematoden des Menschen verläuft überwiegend nach zwei Grundmustern: Bei **direkter Entwicklung,** d.h. wenn kein Zwischenwirt benötigt wird, entstehen weitere Entwicklungsstadien aus den Eiern nur unter Sauerstoffzutritt im Freiland. **Die Infektion findet entweder oral oder perkutan statt.** Bei **indirekter Entwicklung** sind als **Zwischenwirte Insekten** erforderlich, so bei allen Filarien. Bezüglich der genauen Definition der Larvenstadien besteht nicht immer eine einheitliche Auffassung, dies gilt vor allem für die Trichinen.

Strongyloides stercoralis (Zwergfadenwurm)

Morphologie und Entwicklung. Die weiblichen Würmer sind 2–2,5 mm lang bei einem Durch-

messer von 30–50 µm. Sie leben im Duodenum und im oberen Dünndarm. In der Mukosa setzen sie dünnschalige Eier ab (Abb. 10.53), die bereits embryoniert sind. Die Larven (L1) wandern nach dem Schlüpfen ins Darmlumen und werden mit dem Stuhl ausgeschieden (Abb. 10.54, Farbtafeln). Über die rhabditiformen Larven entwickeln sich schon nach einem Tag die infektiösen, filariformen Larven (L3). Diese können in feuchten Böden 12, maximal 18 Tage überdauern. Infektiöse Larven können aber auch aus einer Freilandgeneration des Parasiten hervorgehen. Diese besteht immer aus Männchen und Weibchen, während die Parasitenpopulation im Darm des Menschen wohl ausschließlich aus parthenogenetischen Weibchen besteht. Der Freilandzyklus kann sich beliebig oft wiederholen. Daher sind geeignete Böden



weiter im Inneren, das im Zusammenhang mit Verdauungsdrüsen steht (Abb. 10.57). Die Würmer leben im Dünndarm. Sie saugen sich an der Darmschleimhaut fest und entziehen ihr Blut, das sie zum Teil als Nahrung verwerten. Das Weibchen setzt 10000–20000 Eier pro Tag ab. Diese sind oval, dünnschalig, hyalin und etwa 60 × 40 μm groß (Abb. 10.56, Farbtafeln). Meist findet man das Morulastadium, selten weiter entwickelte Stadien. Wird der Stuhl auf geeignete feuchte Böden abgesetzt, schlüpfen die Larven (s. Abb. 10.57) in 1–2 Tagen, wachsen und häuten sich (Abb. 10.58). Nach 5–8 Tagen wird das filariforme Stadium (L3) erreicht. Diese Larven nehmen keine Nahrung mehr auf, bleiben aber unter günstigen Umweltbedingungen einige Wochen infektionsfähig. Bei Kontakt mit der Haut eines Menschen dringen sie ein und vollführen die schon bei *Strongyloides* beschriebene Wanderung, die im Darm endet. Die Würmer werden nach zwei weiteren Häutungen geschlechtsreif. Neben der perkutanen ist auch eine orale Infektion möglich; d.h. per os aufgenommene reife, filariforme Larven können sich direkt im Darm ohne Lungenwanderung zu erwachsenen Würmern entwickeln.

Klinische Erscheinungen. Das Einbohren der Larven wird meist nicht bemerkt. Beim bereits Infizierten, d.h. Sensibilisierten, können starker Juckreiz und eine lokale Entzündung auftreten. Die Klinik der etablierten Infektion hängt von der Zahl der vorhandenen Würmer ab. Der Blutverlust wird auf etwa 0,25 ml pro Wurm und Tag geschätzt. Der dauernde Blutverlust führt zu einer Eisenmangelanämie, aber auch zu einem schwerwiegenden Eiweißverlust, der bei schlechten Ernährungsbedingungen besonders ins Gewicht fällt. Bei frischen Infektionen tritt meist eine erhöhte Eosinophilenzahl im Blut auf. Sie kann bei chronischen Infektionen verschwinden.

a b

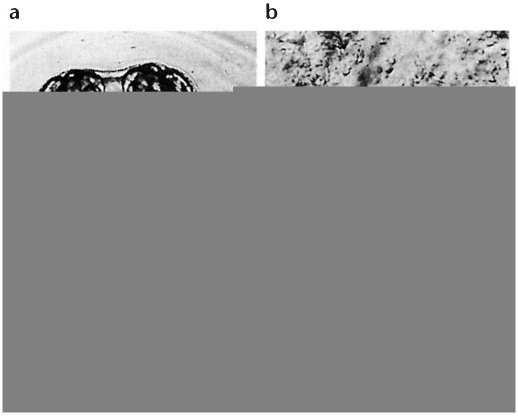


Abb. 10.57 *Ankylostoma duodenale. a)* Vorderende des Adultwurms mit "Zähnen" und muskulösem Ösophagus (Ö). *b)* Ei mit schlüpfbereiter Larve.

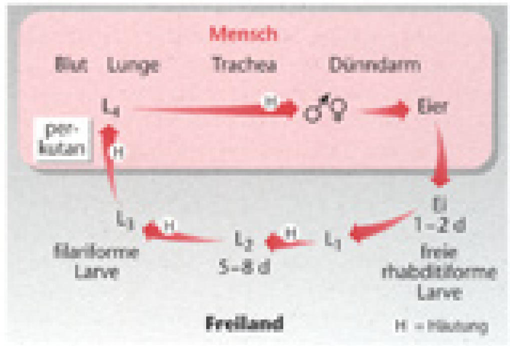


Abb. 10.58 Hakenwurmzyklus. Typischer Nematodenzyklus mit Ei, 4 Larvenstadien und Adultwürmern. *H* Häutung.

Necator americanus

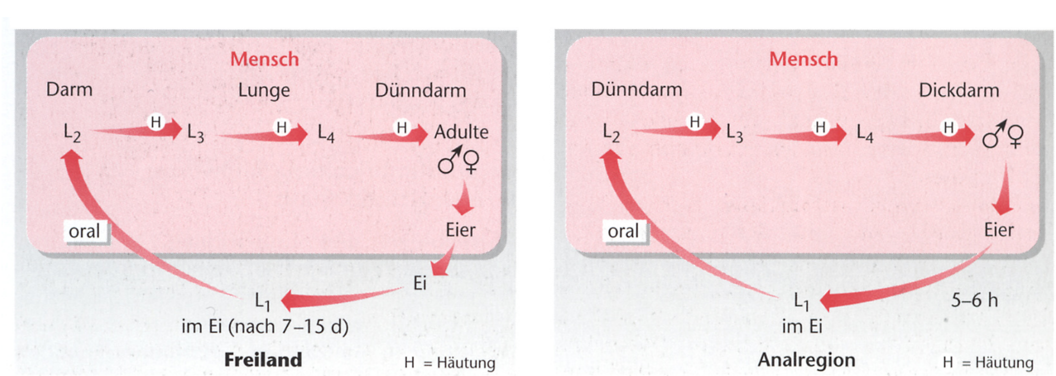
Die adulten Würmer sind kleiner (Weibchen 9–11 × 0,4 mm, Männchen 7–9 × 0,3 mm) und stärker gekrümmt als die von *Ancylostoma.* Das klinische Bild gleicht dem der *Ancylostoma*-Infektion, doch verursachen die kleineren *Necator*-Würmer einen geringeren Blutverlust (etwa 0,03 ml pro Wurm und Tag).

Diagnose. Eier können im Stuhl mikroskopisch direkt oder besser nach Anreicherung nachgewiesen werden. Die Eier von *Ancylostoma* und *Necator* sind nicht zu unterscheiden, dagegen lassen sich die Larven (L3), die in einer Kotkultur herangezüchtet werden können, aufgrund der Bukkalstruktur differenzieren.

Chemotherapie. Bei beiden Hakenwurmarten haben sich Benzimidazolpräparate (z.B. Mebendazol) bewährt.

Ascaris lumbricoides (Spulwurm), Erreger der Askariasis

Morphologie und Entwicklung. Spulwürmer sind große Würmer. Die Weibchen können bis 40 cm lang und bis 6 mm dick werden, die Männchen bis 30 cm lang und bis 4 mm dick. Verwechslungen mit anderen darmbewohnenden Würmern sind daher ausgeschlossen. Ein Weibchen gibt pro Tag bis zu 200000 Eier ab, im Lau-


Mensch
Darm
Lunge
Dünndarm
L2
H
L3
H
L4
H
Adulte
♂♀
Eier
oral
Ei
L1
im Ei (nach 7–15 d)
Freiland
H = Häutung
Mensch
Dünndarm
Dickdarm
L2
H
L3
H
L4
H
♂♀
Eier
oral
L1
im Ei
5–6 h
Analregion
H = Häutung

Bei Madenwurminfektionen sind nicht selten ganze Gruppen betroffen, z.B. Familien, Wohngemeinschaften, Kindergärten, Schulklassen etc., denn die Eier müssen ja nicht ins Freiland gelangen, sondern werden durch den Staub der Wohnungen oder direkt durch körperliche Kontakte weitergegeben: Trockenheit überstehen die Eier nur wenige Tage, in feuchter, kühler Umgebung können embryonierte Eier dagegen 6–8 Wochen infektiös bleiben. Sehr häufig ist gerade bei Kinden die **Autoinfektion.** Beim Kratzen können Eier auf die Hand und unter die Fingernägel und von da in den Mund gelangen.

Klinische Erscheinungen. Die Infektion verläuft oft symptomlos. Bei Kindern werden Schlafstörungen mit dem Juckreiz, der von den Weibchen verursacht wird, in Verbindung gebracht. Bei Mädchen kommt auch Pruritus vulvae vor. In seltenen Fällen können Oxyuren über Uterus und Tuben in die Bauchhöhle vordringen.

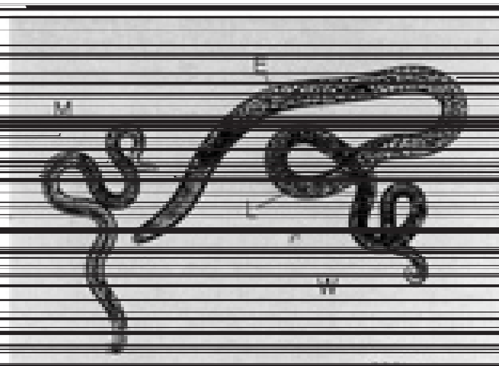
Diagnose. Die Eier werden mikroskopisch meist nicht durch eine Stuhluntersuchung, sondern mit Hilfe eines Analabklatschpräparates nachgewiesen. Hierzu eignet sich besonders ein durchsichtiger Klebestreifen, der morgens vor dem Waschen auf die Analöffnung gedrückt und dann wieder abgezogen wird. Der Streifen wird auf einen Objektträger geklebt und mikroskopisch untersucht. Die Eier haften in der Klebeschicht.

Therapie. In erster Linie ist darauf zu achten, daß hygienische Maßnahmen (Schneiden der Fingernägel, Händewaschen vor dem Essen,



Abb. 10.63 *Trichinella*-Zyklus. In den Wirten laufen die gleichen Vorgänge ab. Die einzelnen Larvenstadien sind nicht gekennzeichnet, weil ihre Zuordnung nicht sicher ist.

abläuft, ist nicht sicher, wie auch unklar ist, welchem Larvenstadium die Muskeltrichinellen entsprechen. Die **Weibchen** dringen nach der Kopulation in die Mukosa ein und beginnen vom 5. Tag nach der Infektion an, lebende Larven freizusetzen; geschätzt werden bis zu 2000 im Laufe ihres 3–4 Monate dauernden Lebens. Die Larven (**„*Bluttrichinellen*“**, 90–100 μm) werden über die Lymphgefäße und die Blutzirkulation im Körper verbreitet. Sie dringen in



10

Blut weiterentwickeln. Die Mikrofilarien verlassen den Darm des Insekts als L1 und wandern durch das Darmepithel in die Thoraxmuskulatur (nur bei *Loa* in den Fettkörper). Nach Wachstum auf 1–2 mm Länge (je nach Art) verbunden mit zwei Häutungen, entsteht die filariforme infektiöse Larve (L3). Diese wandert in die Mundwerkzeuge des Insekts und verläßt sie beim Stich (Abb. 10.67). Zunächst wird die Larve in einem kleinen *Hämolymph*tröpfchen auf der Haut deponiert. Nur wenn es ihr gelingt, vor dem Austrocknen den Stichkanal, den das blutsaugende Insekt hinterlassen hat, zu erreichen, kann die Infektion zustande kommen.
Die Mikrofilarien einiger Filarienarten zeichnen sich durch eine charakteristische **Tagesperiodizität** ihres Auftretens im Blut aus. Die Mikrofilarien von *Wuchereria bancrofti* und *Brugia malayi* sind im wesentlichen nur nachts, die von *Loa loa* um die Mittagszeit im peripheren Blut zu finden.

Wuchereria bancrofti, Erreger der lymphatischen Filariose

Morphologie und Entwicklung. Überträger sind Stechmücken (Moskitos) der Gattungen *Aedes, Culex, Anopheles* und *Mansonia*. Die adulten Fadenwürmer leben beim Menschen in den Lymphwegen und Lymphknoten, vor allem der Leisten, Genitalien und Extremitäten. Die Weibchen erreichen eine Länge von 80–100 mm bei nur 0,25 mm Durchmesser, die Männchen sind deutlich kleiner (40 × 0,1 mm). In den beiden Uterusästen der Weibchen befinden sich proximal Eier, distal Mikrofilarien. Sie liegen noch in ihrer stark gedehnten Eihülle, der sog. Scheide. Als solcherart gescheidete Mikrofilarien erscheinen sie dann auch im Blut. Ihre Größe beträgt 210–320 × 7,5–10 µm und ihre Lebensdauer liegt bei 3–6 Monaten.

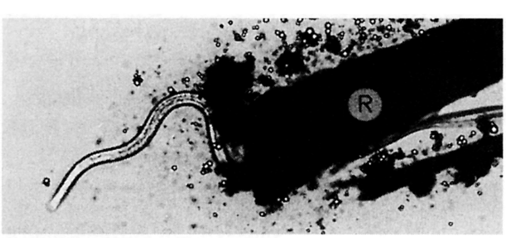


Abb. 10.67 *Brugia malayi.* Aus der Rüsselscheide (*R*) des Überträgermoskitos, *Aedes aegypti*, tritt die infektiöse Filarienlarve aus.

Klinische Erscheinungen. Ein großer Teil der Infektionen bleibt für lange Zeit oder für immer symptomlos. In anderen Fällen rufen die heranwachsenden und die adulten Würmer zunächst rezidivierende Entzündungen der Lymphbahnen und der Lymphknoten, manchmal verbunden mit Fieber, hervor. Beim Mann sind die akuten Erscheinungen als Funikulitis, Epididymitis und als Hydrozele besonders ausgeprägt. Dem akuten Stadium, das Wochen oder auch Monate dauern kann, folgt bei einigen Infizierten ein chronisches Stadium, in dem es durch Bindegewebsbildung zu einer zunehmenden Verödung der Lymphbahnen kommt. Die genauen pathogenetischen Mechanismen sind nicht bekannt. Durch eine Proliferation des Bindegewebes, vor allem im Subcutisbereich, können unförmige Vergrößerungen der Gliedmaßen, besonders der Beine, aber auch des Skrotums und der Mammae auftreten, Krankheitsbilder, die als **Elephantiasis** bezeichnet werden. Diese Spätstadien entwickeln sich nicht selten zu einem Zeitpunkt, wo die Filarieninfektion bereits erloschen ist, d.h. Mikrofilarien nicht mehr nachgewiesen werden können.
Diagnose. Bei hoher Parasitendichte können Mikrofilarien im Blutausstrich oder im Dicken Tropfen nachgewiesen werden. Sind nur wenige vorhanden, müssen Filtrationsmethoden angewendet werden. Der Zeitpunkt der Blutentnahme ist für die Diagnose sehr wichtig, da in Anpassung an die größere Saugaktivität der Moskitos bei Nacht die Mikrofilarien vor allem nachts zwischen 11 und 2 Uhr im peripheren Blut auftreten. Im pazifischen Raum gibt es Filarienstämme ohne ausgeprägte Periodizität. Der Nachweis von Antikörpern ist wegen der Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen andere Nematoden nur beschränkt aussagefähig.

Vorkommen in tropischen und subtropischen Gebieten. *Brugia malayi*, eine nahe verwandte Filarie, kommt in Südostasien vor und befällt neben dem Menschen auch Katzen. Die Krankheitserscheinungen sind denen der *Wuchereria*-Infektion sehr ähnlich.

Loa loa, Erreger der Loiasis bzw. Kalabarschwellung

Morphologie und Entwicklung. Die adulten Würmer halten sich im subkutanen Bindegewebe auf. Wie bei allen Filarien sind die Weibchen (70 × 0,5 mm) größer als die Männchen (30 × 0,4 mm). Die gescheideten Mikrofilarien (250–300 × 6,8 µm; Abb. 10.68, Farbtafeln) fin-

det man nur tagsüber im peripheren Blut. Auch dies ist eine Anpassung an die Lebensweise des Überträgers, hier tagaktive Bremsenarten der Gattung *Chrysops*.

Klinische Erscheinungen. Die Krankheit wird nur im tropischen Afrika beobachtet. 6 bis 12 Monate nach Infektion treten bei der Wanderung der heranwachsenden bzw. adulten Würmer im subkutanen Bindegewebe Schwellungen auf, die jucken oder sogar schmerzen können. Die Erscheinungen bilden sich nach einigen Tagen zurück, tauchen aber meistens an anderer Stelle wieder auf. Man deutet diese ödematösen Schwellungen als entzündliche Reaktion auf Metaboliten der Parasiten. Die wandernden Würmer sind nicht ausschließlich auf die Haut beschränkt. Sie können z.B. unter der Konjunktiva hindurchwandern oder sogar in innere Organe vordringen.

Diagnose. Zum mikroskopischen Nachweis müssen Nativblutpräparate, Blutausstriche oder Dicke Tropfen tagsüber angefertigt werden. Bei Färbung nach GIEMSA wird die Scheide meist nicht angefärbt. Besser geeignet ist eine Färbung mit Hämatoxylin. Bei niedriger Parasitämie müssen Filtrationsverfahren verwendet werden.

Onchocerca volvulus, Erreger der Onchozerkose oder Flußblindheit

Morphologie und Entwicklung. Die adulten Würmer messen 300–500 × 0,25–0,4 mm (Weibchen) bzw. 20–40 × 0,15–0,2 mm (Männchen). Die Weibchen leben aufgeknäuelt in Bindegewebsknoten unter der Haut (Abb. 10.69). Die von ihnen abgegebenen Mikrofilarien (280–330 × 6–9 µm) sind ungescheidet. Sie wandern in der Haut. Hier werden sie beim Blutsaugen von **Kriebelmücken** (Simuliiden, s. Kap. 10.3.4) aufgenommen. Sie entwickeln sich in der Thoraxmuskulatur dieser Insekten zur L3 weiter. Diese infektiöse Larve (560 × 19 µm kann nach 6–12 Tagen auf einen anderen Menschen übertragen werden.

Klinische Erscheinungen. Das Krankheitsbild wird im Gegensatz zu anderen Filariosen nicht durch die Adultwürmer, sondern weitgehend durch die Mikrofilarien, vor allem die absterbenden, verursacht. Sie rufen in der Haut Entzündungen hervor, die in der Regel von einem starken Juckreiz begleitet sind. Bei lange bestehender Infektion wird die Haut zunehmend geschädigt: Sie verliert ihre Elastizität, wird atrophisch oder teilweise hyperkeratotisch.



Abb. 10.69 *Onchocerca volvulus*. Querschnitt durch Teile eines Knotens. Das im Bindegewebe eingebettete Weibchen ist mehrfach angeschnitten. Im Inneren sind meist die beiden Uterusäste (U) zu erkennen.

Außerdem können Depigmentierungen auftreten. Dringen Mikrofilarien in die Kornea und in die vordere Augenkammer ein, so rufen sie eine Keratitis und Iridozyklitis, möglicherweise auch eine Uveitis hervor. Diese Entzündungen und das Einsprossen von Gefäßen und Bindegewebe in die Kornea führt zur Visusminderung, später zur **Erblindung.**

Diagnose. Zum direkten mikroskopischen Nachweis ist es erforderlich, kleine Hautstückchen zu exzidieren. Sie werden in physiologische Kochsalzlösung eingelegt. Nach 15–20 min, bei geringem Befall auch später, können dann die aus dem Gewebe austretenden Larven mikroskopisch erkannt werden.

Chemotherapie der Filariosen. Zur Chemotherapie ist *in der Vergangenheit* das Diäthylcarbamazin (Hetrazan®, Notecine® und Banocide®) verwendet worden. Es tötet die Mikrofilarien, die Wirkung auf Adultwürmer ist gering. Bei der Behandlung kann es zu unangenehmen, gelegentlich auch gefährlichen allergischen Reaktionen kommen, da die geschädigten oder absterbenden Würmer große Mengen Antigen freisetzen. Eine ärztliche Überwachung, vor allem zu Beginn der Behandlung, ist erforderlich. Als neueres Mittel hat sich inzwischen **Ivermectin** bewährt. Wirksame und gleichzeitig gut verträgliche Mittel gegen die Adultwürmer fehlen bisher.

10.3 Arthropoden

Bei dieser Parasitengruppe handelt es sich um Tiere, die entweder immer (z.B. Läuse) oder zeitweise (z.B. Wanzen) auf dem Menschen als

10

Klinik. Da die vergleichsweise trägen Tiere oft stundenlang an derselben Stelle saugen, entstehen bläuliche Hautverfärbungen (Maculae caeruleae, „taches bleu-ardoisé").
Therapie. Wie bei Kopflaus.
Epidemiologie. Übertragung vorwiegend bei längerem und intensivem Körperkontakt, z.B. Geschlechtsverkehr.

10.3.2 Ordnung Siphonaptera (Flöhe)

Flöhe sind 1–8 mm große, nicht stationäre Ektoparasiten, einige Arten sind Pestüberträger oder Zwischenwirte für Bandwürmer (z.B. *Hymenolepis nana*) (s. Kap. 10.2.2). Sie haben eine relativ geringe Wirtsspezifität, die Entwicklung ist holometabol. Das bedeutet, daß sich die drei Larvenstadien und das Puppenstadium nicht nur im Aussehen, sondern auch in der Lebensweise völlig unterscheiden: **Larven und Puppen sind keine Parasiten,** Adulte dagegen, ausgerüstet mit stechend-saugenden Mundwerkzeugen und Sprungbeinen, sind recht mobile Parasiten. Sie können den Wirt leicht wechseln und im Gegensatz zu Läusen monatelange Hungerperioden tolerieren.
Zyklus. Flohweibchen legen bei einer Lebensdauer von vielen Monaten einige hundert **Eier,** die meist in die Lagerstätte der Vorzugswirte fallen, z.B. Hundeschlafplatz (*Ctenocephalides canis*), Katzenkörbchen (*C. felis,* Abb. 10.72), sich aber auch in anderer Umgebung mit geeignetem Mikroklima entwickeln können, z.B. Fußboden-



(70%) und Temperaturen zwischen 18 und 27 °C sind optimal für die Larvenentwicklung. Die bis 5 mm langen **Larven** leben vom Kot der adulten Flöhe und anderem Schmutz. Unter günstigsten Bedingungen dauert die Entwicklung bis zum ausgewachsenen Floh 9–15, meist 30–75 Tage, bei niederen Temperaturen aber bis 200 Tage. Das letzte Larvenstadium spinnt einen Kokon, in dem die **Puppe** und letztendlich der fertige Floh liegt. Das Puppenstadium wird nach 7–14 Tagen verlassen. Das Schlüpfen des Flohs kann sich aber bei fehlendem Wirt bis zu einem Jahr verzögern.

Der Floh verläßt nämlich den Kokon nur dann, wenn bestimmte Reize (Geräusche, Erschütterungen, erhöhter CO_2-Gehalt der Luft u.a.) auf ihn treffen. Dies ist der Grund dafür, daß es auch in lange Zeit unbewohnten Räumen zu einer starken Flohplage kommen kann.

Klinik. Flöhe stechen mehrfach probeweise, bevor sie das Blutmahl aufnehmen. Die Stiche sind daher gruppiert oder linear aufgereiht. Eine punktförmige Hämorrhagie markiert die Stichstelle, an der rasch ein Erythem mit oder ohne zentrale Quaddel entsteht (Frühreaktion). Nach 12–24 h entsteht eine stark juckende Papel, die von einem ausgedehnten Erythem umgeben sein kann (Spätreaktion).
Laboratoriumsdiagnose.

Unumgänglich zur Beendigung eines Flohbefalls ist die Identifizierung der Flohspezies nach relativ

10

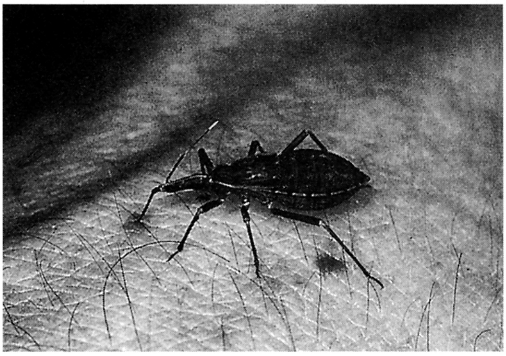




Abb. 10.74 Bettwanze (*Cimex lectularius*). Imago

Eigenschaften der Mücken: Die adulten Mükken haben stechend-saugende Mundwerkzeuge, mit denen Pflanzensäfte oder Blut aufgenommen werden können. Sie bestehen aus der Oberlippe (Labrum), die ein Rohr zur Nahrungsaufnahme darstellt, dem Hypopharynx, einer Borste, die zur Injektion des Speicheldrüsensekretes dient, sowie aus zwei paarigen Mandibular- und Maxillarborsten, die den Weg bahnen. Diese Borsten sind normalerweise eingehüllt von der Unterlippe (Labium), die aber beim Saugakt nicht eingestochen wird. Blut wird nur von weiblichen Stechmücken aufgenommen, die ein Ge-

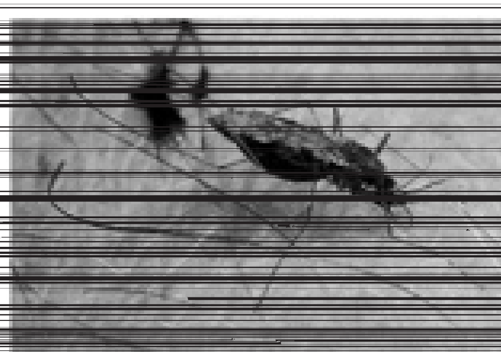




Abb. 10.76 *Aedes*mücke bei der Blutmahlzeit. Kiefertaster im Vergleich zu *Anopheles* kurz. Überträger von Filarien (und zahlreichen Viren).

spiegels abgelegt, die Larven entwickeln sich schnell und können in der Eihülle dann mehrere Monate im Trocknen überdauern. Bei steigendem Wasserspiegel schlüpfen die **Larven** dann rasch und besiedeln so ephemere Gewässer. Die vier Larvenstadien strudeln mit besonders geformten Mundwerkzeugen Nahrung herbei. Zum Atmen kommen sie an die Wasseroberfläche. Ein Atemrohr (Siphon) stellt bei *Aedes*- und *Culex*-Arten die Verbindung zwischen Tracheensystem und Luft her, bei *Anopheles*-Larven dienen dazu zwei Atemöffnungen (Stigmata). Um diesen

auch von Blut leben, ohne Eier abzulegen und dabei Malaria übertragen („Wintermalaria" in Europa). Nur bei wenigen Arten überwintern die Larven.

Taxonomie

Voraussetzung zur Bekämpfung von Vektoren ist die eindeutige Identifizierung der Art.

Innerhalb eines Komplexes von morphologisch nicht unterscheidbaren Geschwisterarten spielen z.B. nicht alle Arten als Vektoren eine Rolle. Hier müssen die Analyse von Chromosomenmustern (Cytotaxonomie), Isoenzymmustern, u.U. molekularbiologische Methoden (PCR) eingesetzt werden.

Prophylaxe. Der Schutz vor Mückenstichen ist vor allem zur Vorbeugung gegen Infektionen („vector borne diseases") notwendig, gegen die es keine Impfung gibt, z.B. Dengue oder Malaria. Hier gelten folgende Regeln:

1. Bei (nächtlichem) Aufenthalt im Freien **angepaßte Kleidung** (lange Hosen, lange Ärmel) tragen, die Mückenstiche erschwert oder verhindert.

2. Verwendung abschreckender Stoffe (Repellents): synthetische Wirkstoffe sind Dimethyl-

z.T. räuberisch in feuchtem Substrat (Schlamm von Gewässern, sich zersetzende pflanzliche Massen, Kuhfladen, Humus unter Rinden in Baumhöhlen etc.). Wenn das Substrat im Überfluß zur Verfügung steht, z.B. angeschwemmte Algenmassen am Strand, abgeerntete Bananenstauden u.ä., dann kann es zu ungeheurer Vermehrung der Gnitzen kommen, so daß solche Gebiete für den Tourismus nicht genutzt werden können (z.B. Westküste Schottlands, Gebiete in der Karibik, in Kalifornien und Florida). Die **Puppen** sehen den Culicidenpuppen mit Atemhörnchen sehr ähnlich. Die **Adulten** werden wegen ihrer geringen Größe meist übersehen. Sie fliegen aber bei schwülem Wetter auch den Menschen an, um Blut zu saugen. Mit ihren zierlichen Mundwerkzeugen können sie Kleidung oder trockene Haut kaum durchdringen. Sie stechen daher bevorzugt an schweißnasser Haut. Moskitonetze bieten, wenn sie nicht mit Insektiziden imprägniert sind, keinen Schutz, da die Maschenweite zu groß ist.

Familie Simuliidae (Kriebelmücken)

Medizinische Bedeutung. Der Stich der Kriebelmückenweibchen ist schmerzhaft. Der Speichel enthält ein Toxin, das zu ödematösen Schwellungen, Lymphadenitis und Lymphangitis führen kann.

In Mittel- und Südamerika sowie in Afrika sind Kriebelmücken als Überträger der Onchozerkose (Flußblindheit) des Menschen, hervorgerufen durch *Onchocerca volvulus*, gefürchtet.

oder eine Diapause zur Überwindung von Trockenperioden einlegen.

Die **Larven** zeigen extreme Anpassungen an das Leben im Fließgewässer: sie können sich auch in starker Strömung am Substrat mit Hilfe einer Haftplatte am Abdomenende festhalten. Außerdem spinnen sie mit einer besonderen Drüse einen Seidenfaden, mit dem sie sich am Substrat verankern. Die Bewegung ist spannerartig mittels eines unpaaren Fußstummels am Thorax und der Haftplatte. Die Anzahl der Larvenstadien schwankt je nach Art. Für die Ernährung benützen die Larven einen besonderen, reusenartigen Filtrierapparat, der sich durch den Druck des strömenden Wassers und die Elastizität der Kutikula entfaltet und durch Muskelaktion zum Mund hin gefaltet wird. Zwei Drüsen produzieren zudem ein Sekret, das den Filtrierapparat klebrig macht und Partikel, die im Wasser treiben, festhält. Diese werden ausgebürstet und gefressen. Die stromlinienförmige Gestalt der Larven unterstützt den Prozeß der Nahrungsgewinnung, außerdem kann der Kopf um 180 Grad gedreht werden. Die Fließgewässer werden also nicht so sehr wegen des höheren Sauerstoffgehalts als vielmehr wegen der für die Ernährung notwendigen Filtriertechnik aufgesucht.

Das letzte Larvenstadium spinnt auf dem Untergrund einen Kokon mit strömungsabgewandter Öffnung, in dem sich die **Puppe** ausbildet. Diese atmet mit speziellen Röhrenkiemen, die frei im Wasser flottieren. Äußere Reize, wie rasche Erwärmung des Wassers oder Trockenfallen, sti-

gelsflügel“ getragen werden. Die meisten Arten sind schlechte Flieger, die z.B. kaum die oberen Stockwerke eines Hauses erreichen. Stiche der blutsaugenden Weibchen findet man daher vor allem bei Menschen, die im Freien übernachtet haben und dort an den im Schlaf unbedeckten Körperteilen. Normale Nahrung beider Geschlechter sind Pflanzensäfte. Die Entwicklung der Larven findet in humosem Boden (unter Steinen, in Baum- und Nagerhöhlen, in Laubstreu oder Brunnen etc.) statt, wo sie die notwendige hohe Luftfeuchtigkeit vorfinden und verrottendes organisches Material, das als Nahrung dient. In Europa findet man Sandmücken der Gattung *Phlebotomus* im ganzen Mittelmeerraum, im Westen bis hinauf in die Bretagne, neuerdings auch in Süddeutschland.

Schutz. Moskitonetze schützen vor Sandmückenstichen nur, wenn sie mit Insektiziden (Pyrethroiden) imprägniert sind, da sie wegen ihrer geringen Größe durch die Maschen schlüpfen können.

Unterordnung Brachycera (Fliegen)

Medizinische Bedeutung. Blutsaugende Stechfliegen übertragen verschiedene Krankheitserreger, z.B. Tsetsefliegen Trypanosomen, Bremsen (Tabaniden) Filarien. Andere Fliegenarten verschleppen, bedingt durch ihre Lebensweise, Krankheitskeime von tierischen und menschlichen Fäkalien auf Lebensmittel; die Maden mancher Arten schließlich können fakultativ oder obligatorisch eine **Myiasis** (Fliegenmadenkrankheit) hervorrufen.

Wie die Mücken haben auch die Fliegen eine holometabole Entwicklung. Ihre Fühler sind jedoch kurz und sie sind tagaktiv.

Die Larven, die meist weder Kopf noch Extremitäten aufweisen, werden als Maden bezeichnet.

Die Puppe ist meist eine „Tönnchenpuppe“, deren Hülle aus der gehärteten und dunkel gefärbten Haut des letzten Larvenstadiums besteht.

Die Mundwerkzeuge der Tabaniden (Bremsen) sind stechend-saugend und noch dem Culicidentyp ähnlich, bei den übrigen Fliegen, soweit sie nicht ektoparasitisch leben, findet man leckend-saugende Mundwerkzeuge. Diese sind bei der Tsetsefliege sekundär wieder in stechend-saugende Mundwerkzeuge umgewandelt worden.

Familie Tabanidae (Bremsen)

Bremsen sind 5–25 mm große, kräftige Fliegen mit kurzen, griffelförmigen Fühlern. Nur die Weibchen sind Blutsauger und tragen die Mundwerkzeuge im Gegensatz zu den Tsetsefliegen nach unten gerichtet. Sie sind tagaktiv und in der Lage, mit ihren großen Augen bewegte Objekte, die als Blutquelle dienen könnten, ausfindig zu machen.

Der Stich durch die recht groben Mundwerkzeuge ist tief und schmerzhaft.

Daher versucht der Wirt, ob Tier oder Mensch, die Fliegen zu vertreiben. Da sie jedoch sehr „schlagresistent“ sind und hartnäckig immer wieder angreifen, sind sie auch als mechanische Krankheitsüberträger von Bedeutung.

Die Eiablage findet im Schlamm oder in feuchten Böden statt, in denen über mehrere Monate die Larvalentwicklung abläuft. Die Larven besitzen ein kurzes Atemrohr und Stummelfüßchen, sie können 1–6 cm lang werden. Zur Verpuppung wandern sie in trockenes Substrat aus. Die wichtigsten Arten sind *Tabanus* spec., *Haematopota (Chrysozona) pluvialis* (Regenbremse), deren Larven sich im Boden in Gewässernähe entwickeln, und *Chrysops* spec. (Abb. 10.77), die im Schlamm der Gewässer leben. Eine Bekämpfung gestaltet sich sehr schwierig, da die Brutplätze schwer zu erkennen sind. Adulte lassen sich durch optisch attraktive Leimtafeln anlocken und bekämpfen.

Familie Muscidae (Fliegen i.e.S.)

Medizinische Bedeutung. *Musca domestica* (große Stubenfliege), *Musca stabulans* (Stall-



Abb. 10.77 *Chrysops* spec. Bremsenart mit auffallenden, leuchtend goldgrünen Augen. Verwandte Arten übertragen z.B. die Filarie *Loa loa*.

fliege, Hausfliege) u.a. Arten entwickeln sich in tierischen und menschlichen Fäkalien.

Da die Fliegen nach dem Schlüpfen gern Lebensmittel anfliegen und als Nahrung nutzen, sind sie gefährliche Verschlepper von Krankheitserregern vom Stuhl bzw. Kot auf Lebensmittel.

Auf diese Weise kann es zu Infektionen mit Bakterien (Salmonellen, Shigellen) Protozoen (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* etc.) kommen, selbst Wurmeier können übertragen werden. Muscaarten sind auch verantwortlich für die Übertragung von *Chlamydia trachomatis*, dem Trachom-Erreger.

Bekämpfung. Maßnahmen gegen Fliegen müssen beim Larvenstadium ansetzen, das heißt Toiletten müssen so angelegt werden, daß Fliegen keinen Zugang finden. Die Maden von *Fannia canicularis* (kleine Stubenfliege) und *Fannia scalaris* (Latrinenfliege) werden gelegentlich in Urin, in Blase oder Enddarm gefunden. Es scheint jedoch keine echte Myiasis (s.u.) zu sein. *Stomoxys calcitrans* (gemeine Stechfliege, Wadenstecher) sowie *Haematobia stimulans* (kleine Stechfliege, Hornfliege) sind Ektoparasiten, die Blut von Mensch und Tier saugen. Die Larvalentwicklung findet im Mist von Schwein, Rind und Pferd statt.

Familie Calliphoridae
(Aasfliegen, Schmeißfliegen, Fleischfliegen)

Medizinische Bedeutung. Die Maden dieser Fliegen entwickeln sich in Kadavern und Exkrementen, aber auch in Wunden bei Mensch und Tier **(fakultative Myiasis, Wundmyiasis).** Zu beachten ist, daß diese Fliegen auch unter Operationsverbände kriechen können, um dort ihre Eier oder Larven abzulegen. Häufige Arten sind *Calliphora erythrocephala*, *C. vomitoria* (blaue Brummer), *Lucilia sericata* und *L. cuprina* (Goldfliegen) (s. Abb. 10.78), *Phormia regina* (Glanzfliege) und *Sarcophaga* spec. (Schmeißfliegen, diese legen keine Eier, sondern Larven ab).

Neuerdings werden *Lucilia sericata*-Larven wieder zur Säuberung von Wunden bei Problemfällen, z.B. Gangrän und Dekubitus, mit sehr gutem Erfolg eingesetzt **(„biosurgery", „Madentherapie").** Durch die übliche Vorverdauung der Nahrung durch die Maden reinigen diese die Wunden enzymatisch und hemmen das Wachstum pathogener Keime durch Sekretion antibiotischer Substanzen.

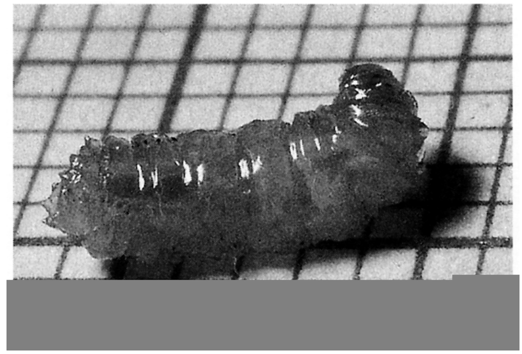


Abb. 10.78 Made von *Lucilia* spec. (Goldfliege) aus einer vernachlässigten Wunde. Fakultativer Myiasiserreger.

Obligatorische Myiasis. In Afrika ist der Befall des Menschen durch die Tumbu-Fliege *(Cordylobia anthropophaga)* verbreitet. Die Fliege legt ihre Eier auf uringetränkten Boden, aber auch direkt an Unterwäsche. Die Larven wandern auch in Wäsche ein, die zum Trocknen ausgelegt wurde. Sie dringen dann aktiv in die Haut des Menschen ein und verursachen eine schmerzhafte **furunkuläre Dermatomyiasis.** Die reifen Larven verlassen das Gewebe nach 8–15 Tagen, fallen zu Boden und verpuppen sich dort. Die in Mittel- und Südamerika vorkommende Spezies *Dermatobia hominis* (Abb. 10.79) aus der Familie der *Cuterebridae* (amerikanische Dasselfliegen) verursacht ähnliche Symptome. Die Larvalentwicklung im Menschen dauert jedoch 5–12 Wochen!

In Südeuropa, Nordafrika und Asien verursacht

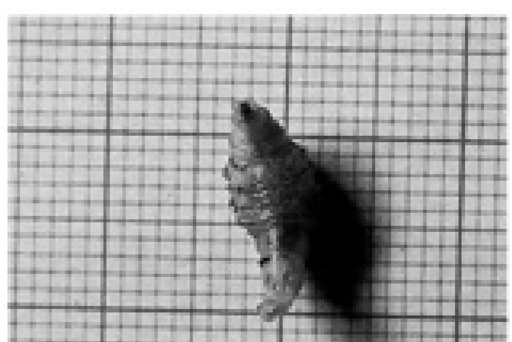


Abb. 10.79 Made von *Dermatobia hominis*, Erreger einer furunkulösen Myiasis in Mittel- und Südamerika. Verwandte Arten in Afrika.

Wohlfahrtia magnifica obligatorisch eine Wundmyiasis. Meist werden Ohr, Nase oder Augen befallen. Die Larven verursachen beträchtliche Zerstörungen und heftige Schmerzen.

Familie Glossinidae

Medizinische Bedeutung. *Glossina*-Arten sind Überträger der Schlafkrankheit (s. Kap. 10.1.1) in Afrika und anderer Trypanosomenarten, z.B. Erreger der Naganaseuchen der Rinder. Die Fusca-Gruppe *(G. fusca, G. brevipalpis)* bevorzugt den Wald als Lebensraum, die Morsitans-Gruppe *(G. morsitans, G. pallidipes, G. swynnertoni)* die Savanne und die Palpalis-Gruppe *(G. palpalis, G. fuscipes, G. tachinoides)* Galeriewälder. Die Schlafkrankheitsüberträger gehören zu den beiden letzten Gruppen.

Biologie. Bei diesen Stechfliegen sind beide Geschlechter Ektoparasiten. Die Mundwerkzeuge sind, außer beim Blutsaugen, nach vorne gerichtet. Die Flügel liegen zungenförmig (glossa = Zunge) übereinander. Eine biologische Besonderheit ist, daß die Weibchen im Uterus einzelne Larven austragen, die durch das Sekret von „Milchdrüsen" ernährt werden. Nach der Geburt der reifen Larve bohrt sich diese in den Boden ein und verpuppt sich. Es ist klar, daß die Vermehrungsrate der Tsetsefliegen nicht hoch ist, ein Aspekt, der die Bekämpfung erleichert.

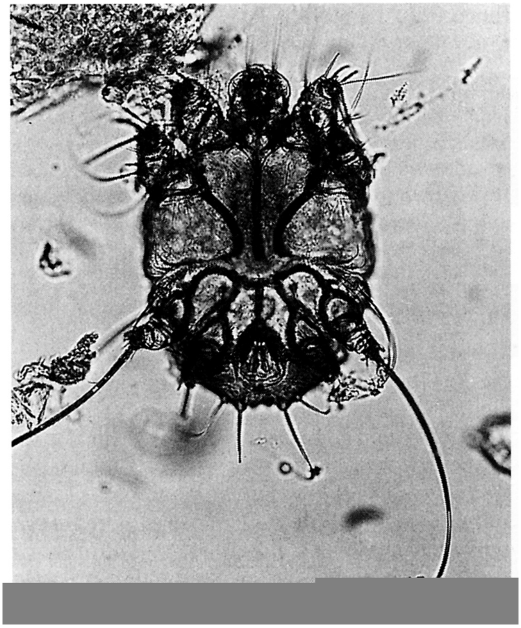


Abb. 10.80 *Sarcoptes scabiei* (Krätzemilbe). Der Parasit wurde aus einer Hautläsion „ausgegraben" (oben links Hautschuppen) und mikroskopisch identifiziert.

10.3.5 Klasse Arachnida (Spinnentiere)

Unterklasse Acari (Zecken und Milben)

Zecken und Milben, wichtige Krankheitserreger und -überträger, besitzen adult vier Beinpaare und weisen sich damit als zugehörig zu den Spinnentieren aus. Außerdem fehlt die für Insekten typische Gliederung in Kopf, Thorax und Abdomen. Das erste Larvenstadium besitzt jedoch nur drei Beinpaare. Als Milben werden die meist unter 1 mm messenden Acari bezeichnet.

Familie Sarcoptidae (Krätzemilbe)

Zyklus. Die 0,3–0,5 mm großen Weibchen (Abb. 10.80) legen im Stratum corneum Bohrgänge an, in denen sie vom Zellsaft beschädigter Zellen leben und ihren Kot absetzen, aber auch täglich einige der 0,08–0,1 mm großen Eier ablegen. Nach 3–7 Tagen schlüpfen die Larven und wandern auf die Hautoberfläche. Hier entstehen nach weiteren 3–7 Tagen die adulten Milben. Befruchtete Weibchen legen dann neue Bohrgänge in demselben oder in einem neuen Wirt an. Der Gesamtzyklus kann in 2–4 Wochen ablaufen.

Klinik. Die Bohrgänge befinden sich meist an dünnhäutigen Körperstellen der Hände, Füße, der Ellenbogen, am Gesäß oder den Achselhöhlen. Bei Männern ist fast immer der Penis betroffen, bei Frauen sind es auch die Brüste. Als erstes Symptom tritt nach ca. vier Wochen ein generalisierter Pruritus auf, dem das feinpapulöse Sekundärexanthem folgt. Kratzwunden können sekundär bakteriell infiziert sein und das Krankheitsbild verschleiern. Unter guten hygienischen Bedingungen verläuft die Skabies oft oligosymptomatisch.

Diagnose. Der Erreger soll nach Möglichkeit mikroskopisch nachgewiesen werden (vgl. Abb. 10.80). Dies kann durch Aufpräparieren eines Bohrganges geschehen, wobei die Milben in einem Tropfen Immersionsöl auf einen Objektträger übertragen werden.

Therapie. Benzylbenzoat, Lindan, Crotamiton, eventuell Ivermectin (AIDS-Patienten).

Epidemiologie und Bekämpfung.

11

Klinische Infektiologie (organorientiert)

Tab. 11.1 Durch Mikroorganismen verursachte Erkrankungen der Haut, des subkutanen Bindegewebes

Erkrankungen durch Bakterien und Pilze		
Folliculitis	*Staphylococcus aureus* *Pseudomonas aeruginosa*	*Candida albicans*
Furunkel, Karbunkel	*Staphylococcus aureus*	
Impetigo	*Streptococcus pyogenes* *Staphylococcus aureus*	
Erysipel	*Streptococcus pyogenes*	
Erysipeloid	*Erysipelothrix rhusiopathiae*	
Intertrigo	*Staphylococcus aureus* Enterobakteriazeen	
Chronische Ulzera[1]	*Haemophilus ducreyi* *Mycobacterium marinum*[2] *Mycobacterium ulcerans*[3] *Nocardia*	*Sporothrix*
(Hautmilzbrand)	*Bacillus anthracis*	
(Hautdiphtherie)	*Corynebacterium diphtheriae*	
Cellulitis	*Streptococcus pyogenes* *Staphylococcus aureus* *Haemophilus influenzae* b	
Wundinfektionen		
postoperativ (aseptische Operationen)	*Staphylococcus aureus* *Streptococcus pyogenes* Enterobakteriazeen	
septische Operationen	*Staphylococcus aureus* Anaerobier (*Bacteroides*) Enterobakteriazeen	
Traumata	Staphylokokken Streptokokken Enterobakteriazeen	
Tetanus	*Clostridium tetani*	
Gasbrand	*Clostridium perfringens* und andere	
synergistische Gangrän	*Staphylococcus aureus* und mikroaerophile Sreptokokken	
Nekrotisierende Fasziitis	*Streptococcus pyogenes*	

Tab. 11.1 *(Fortsetzung)*

Erkrankungen durch Parasiten	
kutane Larva migrans	*Ancylostoma-*, *Necator*-Larven
Zerkariendermatitis („Badedermatitis“)	*Schistosoma*-Larven
Onchozerkose (Flußblindheit)	*Onchocerca volvulus*
Krätze	*Sarcoptes scabiei* (Krätzemilbe)
Erkrankungen durch Viren	
Papillom	Papillomavirus
Molluscum contagiosum	Molluscum-contagiosum-Virus (ein Poxvirus)
Infektiöse pustuläre Dermatitis (Orf, Ecthyma contagiosum)	ein Parapoxvirus, übertragen von Schafen und Ziegen

der Haut ist scharf abgegrenzt, der befallene Bereich ist geschwollen, brennt und juckt. Die Erkrankung kann zu einer Sepsis, Meningitis und lokalen Prozessen (Abszesse, Phlegmone) führen sowie von rheumatischem Fieber oder Glomerulonephritis gefolgt sein. Die sofort notwendige antibiotische Therapie wird mit Penicillin durchgeführt, bei Penicillinallergie mit

tionen von Darm oder anderen Organen, Entfernung infizierter Fremdkörper).

Weichteilinfektionen treten nach Traumata und chirurgischen Eingriffen auf. Sie werden begünstigt, wenn ischämische Bezirke vorliegen (zu straffe Nähte, Hämatome, Ödeme), ein Diabetes mellitus (Infektionen besonders an den Füßen), Obesitas oder Immunosuppression bei

Clostridien. Zum Gasbrand (seltener zu Tetanus) kann es auch nach (sogar aseptischen) Operationen kommen. Eine radikale chirurgische Intervention ist erforderlich, die gelegentlich die Amputation von Gliedmaßen erfordert. Zur Therapie sind neben Antibiotika auch Gasbrand-Antiseren angezeigt, sowie eine hyperbare Sauerstoffbehandlung (Druckkammer).

Für **Verbrennungswunden** sind Infektionen eine besondere Gefahr, die trotz Beherrschung der Verbrennungskrankheit zum Tode führen können. Im Vordergrund stehen als Erreger *Pseudomonas aeruginosa*, gefolgt von *Staphylococcus aureus* und Enterobakteriazeen *(Klebsiella, Proteus, Enterobacter)*.

Bißwunden: Bei Infektionen nach Tierbissen (Hund, Katze) wird fast ausschließlich *Pasteurella multocida* als Erreger nachgewiesen, nach Menschenbissen sind es Anaerobier *(Bacteroides)* aus der Mundflora.

11.2 Infektionen des oberen Respirationstraktes

WERNER KÖHLER

Erkrankungen der Mundhöhle und des oberen Respirationstraktes werden durch Viren und Bakterien, in geringerem Umfang auch durch Pilze und Protozoen verursacht. Im Vordergrund stehen virale Infektionen.

Klinische Bilder

Die Abtrennung der Krankheiten bereitet gewisse Schwierigkeiten, da häufig mehr als ein Ort betroffen ist. So ist z.B. die Pharyngitis durch eine entzündliche Reaktion des Pharynx gekennzeichnet, die Tonsillitis durch eine Infektion der Tonsillen. Beide Bereiche sind aber häufig gleichzeitig befallen, es besteht eine Pharyngotonsillitis oder eine Rhinopharyngitis. Dies ist bei der hier ausschließlich nach lokalen Gesichtspunkten gegebenen Beschreibung zu beachten.

11.2.1 Infektionen der Mundhöhle

Karies: Die Zahnkaries, eine Zersetzung von Zahn-Emaille und Dentin, wird – unterstützt von den begleitenden Faktoren, einer empfänglichen Zahnoberfläche und einer falschen Ernährung, – durch Bakterien verursacht. Wichtigster Erreger ist *Streptococcus mutans*, der extrazelluläre Polysaccharide produziert, die ein Anhaften an die Zahnoberfläche befördern. Durch Süßigkeiten zugeführte Mono- und Disaccharide werden durch die Keime enzymatisch gespalten und führen zur Säurebildung, vor allem von Milchsäure. Die adhärierten Keime bilden „Plaques“, unter denen es zur Säurebildung und dadurch zu Beschädigung des Zahnschmelzes kommt. Die Folge ist das Eindringen von Bakterien in die Pulpa des Zahnes und in die Zahnwurzeln. Anaerobe Keime (z.B. *Bacteroides)* führen zur weiteren Zerstörung, durch Gasbildung kommt es zum Druckschmerz. Prophylaktisch hilft die Zahnhygiene und eine Fluoridzufuhr (täglich 1 mg).

Pulpitis: ist eine Entzündung des Zahnmarks und des umgebenden periodontalen Gewebes, die eine Folge thermaler, chemischer, traumatischer oder bakterieller Schädigung ist. Die Pulpitis ist meist eine der Kariesfolgen. Die eitrige Pulpitis macht sich durch klopfende Schmerzen bemerkbar.

Gingivitis: ist eine Entzündung des Zahnfleisches (Schwellung, Rötung, Blutungen). Bei einer Gingivitis müssen auch Hypovitaminosen, Leukopenie, Allergien, Diabetes, Schwermetallvergiftungen und AIDS in Erwägung gezogen werden.

Stomatitis: ist eine Entzündung der Mundschleimhaut, die von einer leichten inflammatorischen Reaktion bis zu schweren ulzerativen Läsionen reichen und die sich auf die Zunge und die Lippen ausdehnen kann. Die Stomatitiden sind klinisch durch Schwellung, Rötung, Blutungsneigung, Beläge, Mundgeruch (Foetor ex ore), Hypersalivation (erhöhter Speichelfluß) und evtl. Schluckbeschwerden gekennzeichnet. Stomatitis kann als Begleitung schwerer Allgemeinerkrankungen (Sepsis, Typhus, Scharlach, Stoffwechselstörungen [Stomatitits diabetica], bei Schwermetallvergiftungen [Wismut, Quecksilber]) auftreten oder auch als eigenständige virale, bakterielle oder mykotische Infektion. Die *Stomatitis aphthosa* (S. herpetica) kommt vor allem bei Kindern vor und ist die Folge einer Erstinfektion mit Herpes simplex Virus, gekennzeichnet durch das Aufschießen multipler, linsengroßer (2–10 mm), stark schmerzender Ulzerationen der gesamten Mundschleimhaut, Gingiva, Zunge, Lippen. Es bestehen schwere Allgemeinsymptome, Schwellung regionaler Lymphknoten, Fieber. Zu Stomatitis können auch Coxsackie A- und andere Echo-Viren

führen, ebenso das Virus der vesikulären Stomatitis (ein Rhabdovirus) und als Sonderfall das Maul- und Klauenseuche-Virus *(Stomatitis epidemica* oder *S. epizootica)*. Die *Stomatitis ul-*

meist penicillinresistent. Bei Infektionen mit *B. fragilis* ist Clindamycin und Metronidazol angezeigt.

Eine tiefe Halsphlegmone, die auch als **Angina**

Tab. 11.3 Erreger von Infektionen des Oberen Respirationstraktes

Krankheit	Viren	Bakterien und Pilze
Zahnkaries		*Streptococcus mutans*
Rhinitis („Erkältungskrankheiten“)	**Rhinoviren** **Coronaviren** Adenoviren RS-Virus Echoviren	
Gingivitis, Stomatitis	Herpes simplex-Virus Coxsackie A-Viren	*Candida*-Spezies Fusobakterien
Pharyngitis/Tonsillitis	**Adenoviren** RS-Virus Myxoviren Paramyxoviren Coxsackie-Viren	***Streptococcus pyogenes*** Streptokokken der Gruppen C, G, B, F (5–10% der Streptokokkenfälle) *Neisseria gonorrhoeae* (selten) *Corynebacterium haemolyticum* (selten) *Corynebacterium diphtheriae* (selten) Mykoplasmen (selten) *Staphylococcus aureus* (meist als Begleitflora bei viralen Infektionen)
Herpangina	Coxsackie A-Viren	
Angina Plaut-Vincenti		*Fusobacterium*-Arten und/oder *Borrelia vincenti*
Infektiöse Mononukleose	Epstein-Barr-Virus	
Akute Gingivo-Stomatitis		*Borrelia vincenti* und anaerobe Mischflora
Peritonsillar-, Retropharyngeal-Abszeß		*Streptococcus pyogenes*, Fusobakterien, Anaerobier
Mundbodenphlegmone		***Bacteroides melaninogenicus*** *Bacteroides fragilis* gram-positive und gram-negative Keime *Haemophilus influenzae* b
Epiglottitis		

koytenzahlen über 10.000 (10 × 10^9/L) sprechen eher für eine bakterielle als für eine virale Angina. Eine Granulozytenzahl von > 6000 (6 × 10^9/L) und eine Monozytenzahl bis 5000 (5 × 10^9/L) deuten eher auf eine Streptokokkenangina als auf eine viral bedingte Tonsillitis.

Bei **bakteriellen Anginen** stehen Infektionen mit *Streptococcus pyogenes* (A-Streptokokken) im Vordergrund. Andere Erreger sind seltener (s. Tab. 11.3).

Klinisch macht sich die Streptokokkenangina durch Abgeschlagenheit, Frösteln, Schluckbeschwerden, Kopf- und Halsschmerzen, Fieberanstieg über 39 °C, hochroten Gaumen und Tonsillen mit Belägen, die Schwellung regionaler Lymphknoten und evtl. petechiale Blutungen am weichen Gaumen und an der Uvula bemerkbar. Eine besondere Verlaufsform der Streptokokkenangina ist der **Scharlach.**

Komplikationen der Streptokokkenangina können septischer (Otitis media, Sinusitis, Peritonsillarabszeß, abszedierende Lymphadenitis, Jugularvenenthrombose, Meningitis) oder toxischer Art in Form einer Myokarditis sein. Unbehandelt kann die Streptokokkenangina **rheumatisches Fieber** oder **akute diffuse Glomerulonephritis** induzieren. Diese „sterilen Folgeerscheinungen“ werden derzeit allerdings in Europa und Nordamerika nur noch selten beobachtet.

Differentialdiagnostisch ist bei einer Angina an Rachendiphtherie, infektiöse Mononukleose, Agranulozytose und Mumps zu denken.

Therapie der Wahl sind bei Streptokokkenangina Penicilline, alternativ Erythromycin, Azithromycin, Cephalosporine.

Die **Epiglottitis** ist eine hochakute bakterielle Entzündung des Kehlkopfdeckels und des subglottischen Raumes, gekennzeichnet durch hohes Fieber, Heiserkeit, Halsschmerzen und inspiratorischen Stridor. Die Epiglottis ist ulzerös ödematös verändert. Die toxischen Auswirkungen erstrecken sich auf den Kreislauf und zentrale Regulationen. Einer drohenden Asphyxie ist durch Freihalten der Atemwege (Intubation) und antibiotische Behandlung vorzubeugen.

Unbehandelt kann die Epiglottitis, vor allem bei Kindern im Alter zwischen 2–5 Jahren, in 1–2 Tagen zum Tode führen. Erreger ist fast ausschließlich *Haemophilus influenzae* Typ b; das Mittel der Wahl ist deshalb Ampicillin. Eine rechtzeitige Schutzimpfung verhütet die bedrohliche Infektion.

11.2.3 Allgemeine mikrobiologische Diagnostik

Eine mikrobiologische Diagnostik viraler Infektionen des Rachenraumes und des oberen Respirationstraktes ist nicht angezeigt. Sie sollte nur in Sonderfällen ungewöhnlicher Verlaufsformen oder bei epidemischem Auftreten durchgeführt werden.
Im Falle der Pharyngitis/Tonsillitis ist festzustellen, ob es sich um eine virusbedingte oder bakterielle Infektion handelt, da letztere gezielt antibiotisch zu behandeln ist. Zu diesem Zweck wird ein Rachenabstrich vom hinteren Rachenraum und den Tonsillen angelegt und auf geeignete Nährböden ausgestrichen. Sollen nur A-Streptokokken nachgewiesen werden, kann von einem Schnelltest Gebrauch gemacht werden, mit dem das gruppenspezifische Antigen dieser Keime binnen kurzer Zeit nachgewiesen werden kann (Enzym-Immuno-Assay, Latexagglutination).
Ein gefärbter mikroskopischer Ausstrich kann Auskunft über das Vorkommen fusiformer Stäbchen, von Spirochäten, coryneformen Bakterien und Hefen geben. Die Keime sind auch als normale Rachenflora vorhanden und eine mögliche pathogenetische Bedeutung kommt ihnen nur dann zu, wenn sie in erhöhter Zahl und im Zusammenhang mit krankhaften Veränderungen nachgewiesen werden. Das gleiche gilt für den kulturellen Nachweis. Zahlreiche potentiell pathogene Keime gehören zur normalen Rachenflora oder lassen sich bei symptomlosen Bakterienträgern nachweisen. Es ist deshalb seitens des einsendenden Arztes erforderlich, eine Verdachtsdiagnose anzugeben, damit ggf. Spezialnährböden eingesetzt werden. Dies gilt z.B. bei Verdacht auf Diphtherie oder eine Gonokokken-Pharyngitis.
Im Routinebetrieb sind von den Rachenabstrichen Blutplatten anzulegen und anaerob sowie in 5% CO_2-Atmosphäre zu bebrüten. Bei septischen Krankheitsbildern und bei Verdacht auf *H.-influenzae*-b-Infektion (Epiglottitis) sind Blutkulturen erforderlich.

11.2.4 Allgemeine Therapiehinweise

Virusinfektionen können nur symptomatisch behandelt werden. Rachenraum-Infektionen mit *S. pyogenes* werden mit Penicillin therapiert, bei Penicillinallergie mit Erythromycin oder einem Cephalosporin. Um Folgeerkrankungen und Komplikationen zu vermeiden, ist die antibiotische Therapie über 10 Tage fortzuführen. Tatsächliche oder scheinbare Therapieversager werden bei 10–20% angegeben, bedingt durch mangelnde Patientencompliance, ungenügende Therapiedauer, β-Laktamasebildung der Mundflora (besonders *Staphylococcus aureus)* und penicillintolerante (nicht resistente!) Stämme.
Angina Plaut-Vincenti und andere Fusospirochätosen werden mit Penicillin behandelt, bei *Candida*-Infektionen kann eine topische oder systemische antimykotische Therapie notwendig werden.
Bei Diphtherie ist eine sofortige antitoxische Behandlung angezeigt, ergänzt durch Erythromycingaben.

Literatur

Brede, H.-D. (Hrsg.): Infektion und Abwehr, Bd. 2, Ratiopharm, Ulm 1993.
Ocklitz, H.-W., H. Mochmann und B. Schneeweiss (Hrsg.): Infektologie, 2. Aufl., Fischer, Stuttgart 1978.

11.3 Infektionen des mittleren und unteren Respirationstraktes

Reinhard Marre

Infektionen des mittleren und unteren Respirationstraktes umfassen die Laryngitis, Tracheitis, Bronchitis und verschiedene Formen der Pneumonie. Obschon mit der eingeatmeten Luft auch die Aufnahme von Krankheitserregern droht, kommt es bei einem primär gesunden Menschen ohne Schädigung des Infektabwehrsystems nur selten zu Infektionen der Atemwege. Das Infektabwehrsystem ist ein komplexes, gestaffelt aufgebautes System, welches aus einer Kombination von physikalischen und chemischen Faktoren besteht und in ein Netzwerk von Kommunikation und Kooperation zwischen Zellen des Immunsystems untereinander eingebettet ist (Tab. 11.4). Einströmende Luft wird zunächst

Tab. 11.4 Infektionsabwehr und Erregerspektrum bei Infektionen des mittleren und unteren Respirationstraktes

Abschnitte des Respirationstraktes	Histologie	Mechanismen der Infektabwehr	Infektionserreger
Trachea	mehrreihiges Flimmerepithel, viele Becherzellen, Glandulae trachealis	Blockierung mikrobieller Adhäsine durch sezernierten Schleim und sezernierte IgA-Antikörper Transport der in Schleim verpackten Mikroorganismen in Richtung Oropharynx durch den Flimmerschlag	Akute Bronchitis: Influenza-Virus, Adenoviren, Corona-Virus, Parainfluenza-Virus, R/S-Virus, Coxsackievirus *Bordetella pertussis* *Chlamydia pneumoniae*
Bronchien	mehrreihiges Flimmerepithel, Becherzellen, Glandulae bronchialis, Lymphfollikel	Einleitung einer spezifischen Erregerabwehr	Chronische Bronchitis: *Streptococcus pneumoniae* *Haemophilus influenzae* *Branhamella catarrhalis*

fenden Bronchitiden ist ein Erregernachweis nicht angezeigt. Vermutet man aufgrund der epidemischen Situation und der Allgemeinsymptomatik eine Influenza-Virus-Erkrankung, so kann die Diagnose mittels Antikörpernachweis und bei entsprechend ausgestatteten und qualifizierten Laboratorien auch mittels Viruskultur erfolgen. Eine gezielte Therapie der viralen Bronchitis ist meist nicht möglich, aber auch nicht nötig. *Chlamydia pneumoniae*-Infektionen werden mit Makrolid-Antibiotika (z.B. Erythromycin, Clarithromycin, Roxithromycin) oder Tetrazyklinen behandelt. β-Laktam-Antibiotika sind wegen der Besonderheiten der intrazellulären Lokalisation und des Zellwandaufbaus bei *Chlamydia pneumoniae* unwirksam.

Bei der **chronischen Bronchitis** spielen Mikroorganismen praktisch keine Rolle, die akute Exazerbation kann jedoch mikrobiell ausgelöst sein. Das Erregerspektrum ist außerordentlich vielfältig und umfaßt *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* und gelegentlich andere bakterielle Spezies, die auch zur physiologischen Flora des oberen Respirationstraktes

domonas aeruginosa, Staphylococcus aureus; jedoch sind auch Spezies anzutreffen, die im klinisch mikrobiologischen Labor sonst selten anzutreffen sind, wie z.B. *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* oder die „schwarze Hefe“ *Exophiala*.

11.3.2 Pneumonie

Aus klinisch infektiologischer Sicht ist eine Unterteilungen der Pneumonien in die Lobärpneumonie, Bronchopneumonie und interstitielle Pneumonie sinnvoll. Lobärpneumonien sind Pneumonien, deren Ausbreitung sich an den Lungenlappengrenzen orientiert, Bronchopneumonien gehen von den Bronchien aus und sind damit multifokal, und interstitielle Pneumonien sind Entzündungen im Lungeninterstitium. Ergänzende Charakterisierungen betreffen die Vorgeschichte des Patienten (ambulant oder nosokomial erworben, Pneumonie bei Immunsuppression, Pneumonie nach Aspiration). Diese Differenzierung hat unmittelbare Bedeutung für das wahrscheinliche Erregerspektrum (Tab. 11.5), die antimikrobielle Chemotherapie und die

Tab. 11.5 In verschiedenen Ländern Europas beobachtetes Erregerspektrum ambulant erworbener Pneumonien (Marre et al., 1999).

	Deutschland Anzahl der Patienten (%)	Schweden Anzahl der Patienten (%)	Spanien Anzahl der Patienten (%)
Gram-positive Bakterien	70 (33)	–	–
Streptococcus pneumoniae	64 (30)	128 (46)	74 (15)
Staphylococcus aureus	4 (2)	2 (1)	8 (2)
andere	1	–	–
Gram-negative Bakterien	19 (9)	–	–
Haemophilus influenzae	12 (6)	10 (4)	9 (2)
Klebsiella spp.	5	–	7
Escherichia coli	1	–	4
Branhamella catarrhalis	–	3 (1)	–
andere	1	4 (1)	4 (1)
Legionella spp.	15	10 (4)	70 (14)
Erreger atypischer Pneumonien	18 (8)	–	–
Mycoplasma pneumoniae	12 (6)	27 (10)	22 (4)
Chlamydia psittaci	5	3 (1)	–
Chlamydia pneumoniae	–	0	–
Coxiella burnetti	1	–	3 (1)
Pneumocystis carinii	7	1	–
Viren	9 (4)	–	60 (12)

11

Pneumonie bei Immunsuppression

Bei Pneumonien unter Immunsuppression, z.B. nach Organtransplantation und bei Leukopenie, verschiebt sich das Spektrum relevanter Pneumonie-Erreger erneut und umfaßt Spezies, die bei Patienten mit normaler Infektabwehrlage

11.4 Infektionen und Intoxikationen des Gastrointestinaltraktes

JÜRGEN HEESEMANN



11

brio cholerae, **e**ntero**t**oxische ***E. coli*** **ETEC** und **e**ntero**p**athogene ***E. coli*** **EPEC)** und das Protozoon *Giardia lamblia* infizieren bevorzugt den oberen Dünndarmbereich. Die Rotaviren gehören zu den häufigsten Enteritiserregern der Säuglinge und Kleinkinder. Sie schädigen die Enterozyten und verursachen damit eine Entzündungsreaktion mit massiver Wasser/Elektrolytresorptionsstörung. Hieraus ergibt sich die klinische Symptomatik: wäßriger Durchfall mit Erbrechen, Darmkrämpfe und Fieber. Die bakteriellen Erreger *V. cholerae* und *E. coli*, Pathotyp ETEC, haften spezifisch an den Dünndarm-Enterozyten ohne sie zu zerstören. Sie sezernieren Enterotoxine, die die Adenylzyklase (Choleratoxin, hitze**l**abiles *E. coli* **T**oxin **LT)** oder die Guanylzyklase (hitze**s**tabiles *E. coli* **T**oxin **ST)** der Enterozyten stimulieren und dadurch die Wasser/Elektrolytresorption stören. Es kommt

Plaques (PP) ist die bevorzugte Eintrittspforte für *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* und *Campylobacter jejuni*. Die PEYERschen Plaques sind Darmlymphfollikel, die zum Darmlumen durch Mucosaepithel und M-Zellen abgegrenzt sind. Die M-Zellen translozieren die Erreger subepithelial, wo sie sich vermehren und dann über Lymph- und Blutgefäße disseminieren können. Bei der Salmonellose, Yersiniose und Campylobacteriose handelt es sich um akute invasive Darminfektionen mit Bakteriämien und ggf. systemischen Infektionen (Abszedierung in Niere, Leber, Milz, ZNS oder Gelenke). Die im terminalen Ileum beginnende Infektion kann sich bis in den Colonbereich ausweiten und schwere ulzerierende Colitiden verursachen. Die Erkrankungen sind mit wäßrigen, schleimigen und nicht selten blutigen Durchfällen, Erbrechen, Darmkrämpfen

Darmentleerungen unter Bauchkrämpfen, die dann in blutige, schleimige bis eitrige Durchfälle übergehen (ruhrartiger Durchfall). Die enterohämorrhagischen *E. coli* zeigen Gemeinsamkeiten mit EPEC hinsichtlich der „attachment effacing" Läsion und mit *Shigella dysenteriae* hinsichtlich der Shigatoxinproduktion. EHEC-Infektionen spielen gehäuft bei Kindern unter 5 Jahren und alten Menschen eine wichtige Rolle als Erreger der **enterohämorrhagischen Colitis** (blutige Stühle, kein Fieber) und des **h**ämolytisch-**u**rämischen **S**yndroms **(HUS:** hämolytische Anämie, Thrombozytopenie, Nierenschädigung). Für das HUS sind wahrscheinlich EHEC-Stämme verantwortlich, die eine **S**higa**t**o**x**in-Variante **(Stx** 2) produzieren. EHEC-Infektionen sind hochinfektiös. Sie werden durch kontaminierte Milch- und Rindfleischprodukte übertragen; auch Übertragungen von Mensch zu Mensch spielen eine wichtige Rolle. Der EHEC-Prototyp ist der Serotyp O157:H7.
Ruhrartige Durchfälle werden auch von *Entamoeba histolytica* verursacht. Die Amöben erzeugen Schleimhautulzerationen und können aufgrund ihrer Invasivität über Blut- und Lymphgefäße in innere Organe disseminieren und z.B. schwere Leberabszesse verursachen. Die Amöbenruhr spielt in den gemäßigten Zonen eine untergeordnete Rolle.
Clostridium difficile ist bekannt geworden als Erreger der **antibiotikainduzierten pseudomembranösen Colitis**. Eine Antibiotika-vorgeschädigte Darmflora macht die Infektion erst möglich. Ob der Erreger zur autochthonen Flora gehört oder exogen durch Sporen aufgenommen wird und dann bei Antibiotikagabe im Colon verbesserte Lebensbedingungen findet, ist unklar. Sicher ist, daß das *Clostridium difficile* Toxin für die Zerstörung des Colonepithels verantwortlich ist.

Epidemiologie und Meldepflicht

Durchfallerkrankungen gehören zu den häufigsten Infektionskrankheiten. Besonders betroffen sind Kinder unter 5 Jahre in der Dritten Welt (ca. 2 Milliarden Infektionen/Jahr). Täglich sterben ca. 10 000 Kinder an Durchfallerregern. Die Tab. 11.6a soll einen Überblick über die globale Bedeutung der GIT-Infektionen geben.
Die Mehrzahl der Infektionen könnten durch klassische Hygienemaßnahmen verhindert werden (sauberes Trinkwasser, kontrollierte Abwasserentsorgung, kontrollierte Lebensmittelproduktion). Entsprechend spielen *Vibrio cholerae*, *Salmonella enterica* (Serotyp Typhi), *E. coli* (ETEC, EIEC, EPEC), Shigellen, *Giardia lamblia* und *Entamoeba histolytica* in den hochindustrialisierten Ländern keine wichtige Rolle.
Der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod an akuten Darminfektionen sind **meldepflichtig,** wobei zwischen Salmonellosen, Shigellosen und „übrigen Formen der *Enteritis infectiosa*" unterschieden wird. Die gemeldeten Fälle und Inzidenzraten von Darminfektionen in Deutschland sind in Abb. 11.3 dargestellt.

Therapie

Die wichtigste therapeutische Maßnahme bei akuten Darminfektionen besteht in der Rehydration des Patienten (z.B. Salz-Zuckerlösung: 3,5g NaCl; 2,5g $NaHCO_3$; 1,5g KCl und 20g Glukose pro 1 Liter Trinkwasser). Nur wenige GIT-Infektionen werden mit Chemotherapeutika und Antibiotika therapiert:

Tab. 11.6a Globale Bedeutung der gastrointestinalen Infektionen (Daten der WHO und andere Quellen)

Erreger	Anzahl der Infizierten/Jahr	Todesfälle/Jahr
Helicobacter pylori	2,5–3,5 Milliarden	?
E. coli, ETEC	650 Millionen	800 000
Entamoeba histolytica	200–400 Millionen	?
Giardia lamblia	200 Millionen	?
Shigellen	140 Millionen	600 000
Rotaviren	125 Millionen	900 000
E. coli, EPEC	100 Millionen	?
Salmonella typhi	33 Millionen	500 000
Vibrio cholerae	300 000	10 000



Abb. 11.3 a: gemeldete Fälle von Salmonellosen und Enteritis infectiosa "übrige Formen" in Deutschland (1990–1999; Fälle pro 100 000 Einwohner/Jahr); b: Inzidenzraten ausgewählter Enteritiserreger und Enteritis infectiosa „übrige Formen" in Deutschland (1995–2000; Quelle: ROBERT KOCH-Institut, Berlin).

- *Helicobacter pylori*: Metronidazol, Clarithromycin, Amoxicillin
- Shigellen: Fluorchinolone, Cotrimoxazol
- *Giardia lamblia*: Metronidazol
- *Entamoeba histolytica*: Metronidazol, Paromomycin

Bei Infektionen mit enterohämorrhagischen *E. coli* ist eine Antibiotikatherapie kontraindiziert (Verschlechterung des Krankheitsbildes).

Eine Antibiotikatherapie ist bei systemischen Infektionen mit *Salmonella enterica* (insbesondere beim Typhus), Yersinien und *Campylobacter jejuni* indiziert (z.B. mit Fluorchinolonen).

11.4.2 Lebensmittelbedingte Intoxikationen des Gastrointestinaltraktes

Bei der Lebensmittelherstellung kann es zur Kontamination mit toxinproduzierenden Mikroorganismen kommen. Der Verzehr solcher Lebensmittel führt dann in wenigen Stunden zu akuten gastroenteritischen Krankheitsbildern von kurzer Dauer (ohne Fieber!). Die beteiligten Erreger sind weder invasiv noch im üblichen Sinne enteropathogen, häufig sind sie im Darminhalt gar nicht nachweisbar. Das Pathogenitätsprinzip beruht auf der Wirkung der in den aufgenommenen Lebensmitteln vorhandenen Exo- und Endotoxine (Tab.11.6b). *Clostridium botulinum* fällt aus dieser Gruppe heraus, da das Botulismustoxin neurotoxisch und nicht enterotoxisch wirkt. In der Regel handelt es sich um kontaminierte Lebensmittel, in denen sich die Erreger wegen guter Wachstumsbedingungen (z.B. Unterbrechung der Kühlkette, unzureichende Erhitzung bei der Konservierung) schnell vermehren und Exotoxine produzieren. Beim Wiederaufwärmprozeß (Kurzzeiterhitzung) wird i.d.R. das Toxin nicht inaktiviert (gilt für Botulismustoxin und Staphylokokken-Enterotoxin). Bei Lebensmittelintoxikation durch *C. perfringens* und *B. cereus* werden neben den Enterotoxinen auch große Mengen Sporen und vegetative Zellen (10^6–10^7/g Lebensmittel) aufgenommen, die wahrscheinlich ebenso zur klinischen

Tab. 11.6b Lebensmittelbedingte Intoxikationen

Erreger	Inkubationszeit	Pathomechanismus	Klinik (Dauer)	Infektionsquelle
Clostridium botulinum	18–36 (72) h	Botulismus-Toxin A–G (Neurotoxin)	– Doppelbilder – Schluckstörung – Atemlähmung (Dauer: Wochen–Monate)	Lebensmittel-Konserven, Räucherschinken u.a.
Clostridium perfringens	12–24 h	Enterotoxin, hohe Keimzahl	Bauchkrämpfe, Erbrechen, wäßriger Durchfall (12–24 h)	massiv kontaminierte Lebensmittel mit Sporen (Staub, Gewürze) und vegetativen Clostridien (z.B. Fleisch, Geflügel)
Bacillus cereus	8–16 h	Enterotoxin	Übelkeit, Erbrechen, Durchfall (6–24 h)	massiv kontaminierte Lebensmittel (Fleisch- und Reisgerichte)
Staphylococcus aureus	2–6 h	Enterotoxine A–G, wirken als Superantigene	Hypotonie mit Kollaps, Bauchkrämpfe, wäßriger Durchfall, Schockähnlicher Zustand (6–24 h)	kontaminierte Fleisch-, Geflügel- und Krabbenfleisch-Gerichte

Symptomatik beitragen. Es ist offensichtlich, daß diese Erkrankungen nicht von Mensch zu Mensch durch direkten Kontakt übertragen werden können wie z.B. Shigellen. Daher stehen Ausbrüche meist im Zusammenhang mit Gemeinschaftsverpflegung, Großküchen und zentraler Herstellung der Lebensmittel bei schlechten Hygienezuständen.

Bei *Clostridium botulinum* konnten inzwischen sieben serologisch unterscheidbare Botulismustoxine (A–G) identifiziert werden. Die Toxine A, B und E kommen am häufigsten vor, sie sind mäßig hitzestabil (80 °C/30 Minuten). Nach oraler Aufnahme des Toxins gelangen die Toxine über die Darmmukosa und Blutbahn zu den cholinergen Synapsen der motorischen Endplatten und inhibieren die Acetylcholinfreisetzung durch proteolytische Spaltung der an der Vesikelfusion beteiligten Proteine (Synaptobrevin und Syntaxin). Erste Symptome sind Doppelsehen und Schluckstörungen. Zur Therapie muß bei Verdacht auf Botulismus Antitoxin gegeben werden. Die Paralyse kann über mehrere Monate anhalten. Zur Diagnose wird aus Mageninhalt, Blut und Lebensmittelextrakten das Toxin im Immunoassay oder durch Mausversuch (intraperitoneale Injektion) nachgewiesen.

Bei der Intoxikation mit *S.-aureus*-Enterotoxinen gelangt zunächst *S. aureus* z.B. über infizierte Verletzungen der Hände in die Lebensmittel. Bei Lagerung der Lebensmittel oberhalb von 15 °C oder langsamen Abkühlen wird Enterotoxin gebildet. Nachträgliche Kurzzeiterhitzung tötet die Erreger ab, läßt aber das Enterotoxin unbeschadet. Die Enterotoxine (Typ A–F) wirken als *Superantigene* (Stimulierung der Zytokinproduktion von Makrophagen und T-Zellen, am häufigsten Toxin A). Die Patienten entwickeln 1–4 Stunden nach Aufnahme des Toxins einen schockähnlichen Zustand mit Blutdruckabfall, Bauchkrämpfen, Erbrechen und Durchfällen, der spätestens nach 12–24 Stunden abgeklungen ist. Staphylokokkenenterotoxine können mittels Immunoassay nachgewiesen werden.

Bacillus-cereus- und *Clostridium-perfringens*-Intoxikationen entstehen nach Aufnahme von Lebensmitteln, die massiv mit den Erregern kontaminiert sind (10^6–10^7 Keime/g, Sporen und vegetative Mikroorganismen). Nach 8–20 Stunden kommt es zu Erbrechen, Bauchkrämpfen und Durchfällen, die nach einem Tag abgeklungen sind. Für die mikrobiologische Diagnose ist der quantitative Nachweis von *B. cereus* oder *C. per-*

fringens (>10^6 Erreger/g) in den verdächtigen Lebensmitteln oder im Darminhalt der Betroffenen erforderlich. Für Enterotoxinnachweise stehen Immunoassays und PCR (Gennachweis) zur Verfügung.

Meldepflicht

Der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod an Botulismus sind meldepflichtig (§6 IfSG). Der Verdacht und die Erkrankung von mikrobiell bedingten Lebensmittelvergiftungen sind meldepflichtig 1. bei Personen mit Tätigkeiten im Bereich Lebensmittelverarbeitung/Verkauf und 2. wenn zwei oder mehr gleichartige Erkrankungen auf einen epidemischen Zusammenhang hinweisen.

11.5 Infektionen der Leber

WOLFGANG JILG

Zahlreiche Erreger können die Leber infizieren. Einige führen zu einem obligaten Leberbefall, wie die Hepatitisviren A bis E oder die Malariaplasmodien. Manche befallen primär andere Organe, breiten sich aber häufig auch in die Leber aus; dazu gehören Gelbfieber-, Lassa- und Ebolaviren, Leptospiren, Amöben, Schistosomen, Trematoden *(Fasciola hepatica, Clonorchis sinensis)* sowie Echinokokken. Einen gelegentlichen Leberbefall findet man bei Infektionen mit Epstein-Barr-, Zytomegalie-, Herpes-simplex- und Parvoviren, Brucellen, Treponemen, Listerien, Mykobakterien sowie bei Leishmaniose und Toxoplasmose. Schließlich kann eine Viel-

Tab. 11.7 Hepatitisviren A–E: Epidemiologie, Klinik, Therapie und Prophylaxe

	HAV	HBV	HCV	HDV	HEV
Übertragung	fäkal-oral	parenteral	parenteral	parenteral	fäkal-oral
Inkubationszeit (Wochen)	2–7	6–21	3–12	4–8	1–8
Chronifizierung möglich	nein	ja	ja	ja	nein
Karzinomentstehung	nein	ja	ja	ja (durch HBV)	nein
antivirale Therapie verfügbar	nein	ja (chron. Inf.)	ja (akute u. chron. Inf.)	ja (chron. Inf.)	nein
Immunprophylaxe					
passiv	ja	ja	nein	nein	nein
aktiv	ja	ja	nein	nein*	nein

* Impfung gegen Hepatitis B schützt auch vor Hepatitis D

erhöhte Konzentrationen der Serumtransaminasen SGPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase) und SGOT (Glutamat-Oxalazetat-Transaminase), wobei typischerweise die Werte für die SGPT höher sind als die für die SGOT, außerdem ein *Anstieg des Bilirubins*, während die alkalische Phosphatase und die Gamma-Glutamyl-Transferase (γ-GT) meist nur geringgradig erhöht sind.
Eine akute Hepatitis A oder E ist im allgemeinen nach vier bis acht Wochen abgeklungen, bei unkompliziert verlaufender Hepatitis-B- und -C-Infektion tritt eine klinische und biochemische Normalisierung innerhalb von drei bis vier Monaten ein.
In knapp einem Prozent aller Fälle von ikterischer Hepatitis kommt es zu einem *fulminanten Verlauf*, der bei mehr als der Hälfte der Patienten tödlich endet. Er ist gekennzeichnet durch eine massive Leberzellzerstörung, eine schwere Leberfunktionsstörung und einen ausgeprägten Ikterus. Fulminante Hepatitiden treten öfter im höheren Lebensalter auf und sind am häufigsten nach Hepatitis-B- und -D-Infektionen.
Die **Diagnose** einer Virushepatitis verläuft in zwei Schritten (Tab. 11.8): zunächst sichert man das Vorliegen einer Virushepatitis durch das klinische Bild, eine typische Anamnese und die biochemischen Befunde. Da Krankheitsbild und klinisch-chemische Befunde keine Unterscheidung zwischen den einzelnen Hepatitisviren erlauben, muß in einem zweiten Schritt mittels serologisch-virologischer Methoden der Erreger identifiziert werden. Für eine rationelle Diagnostik hat es sich bewährt, zunächst Anti-HAV-IgM, HBsAg, Anti-HBc und Anti-HCV zu be-

Tab. 11.8 Diagnose der akuten Virushepatitis

1. Sicherung der Diagnose „Akute Virushepatitis"	
Klinisches Bild	Ikterus, Oberbauchbeschwerden, Übelkeit, Fieber
Anamnese	Kontakt zu an Hepatitis Erkrankten; Auslandsaufenthalt (Mittelmeergebiet, Tropen, Subtropen), Zugehörigkeit zu einer Risikogruppe (im medizinischen oder zahnmedizinischen Bereich tätig, Empfänger häufiger Bluttransfusionen

stimmen. Erst in zweiter Linie ist an die in Mitteleuropa seltene Hepatitis D und die nur in bestimmten Gebieten Asiens, Afrikas oder Südamerikas vorkommende Hepatitis E zu denken. Zu Erhöhungen der Leberenzyme kann es im Rahmen vieler anderer akuter Virusinfekte kommen wie Röteln, Masern, Mumps oder Enterovirusinfektionen. Hier prägt in aller Regel die Grunderkrankung das klinische Bild. Ähnliches gilt auch für die durch das Epstein-Barr-Virus hervorgerufene Infektiöse Mononukleose; gelegentlich kann die Erstinfektion mit diesem Erreger aber auch ausschließlich unter dem Bild einer Virushepatitis verlaufen. Auch für die primäre Zytomegalievirus- und HIV-Infektion sind hepatitisähnliche Verläufe beschrieben worden.

Schwere, gelegentlich fulminante Leberentzündungen können Zytomegalie-, Herpes-simplex-, und das Varicella-Zoster-Virus bei Immunsupprimierten hervorrufen, oft in Verbindung mit anderen Organmanifestationen. Schließlich ist eine Leberbeteiligung auch typisch für hämor-

Virushepatitis sind sehr variabel. Ihr Spektrum reicht von völliger Symptomfreiheit, wobei eine chronische Infektion nur zufällig entdeckt wird, über milde, unspezifische Beschwerden wie Abgeschlagenheit, Leistungsschwäche und diffusem Druckgefühl im Oberbauch bis hin zu deutlicher klinischer Symptomatik, die oft der einer akuten Virushepatitis ähnelt mit ausgeprägtem Krankheitsgefühl, gastrointestinalen Beschwerden und Ikterus.

Etwa 20 bis 30% aller chronischen Hepatitiden verlaufen *progredient* mit Übergang in eine **Leberzirrhose.** Im fortgeschrittenen Stadium stehen deren Symptome im Vordergrund: Ikterus, Leberhautzeichen wie Spidernaevi und Palmarerythem, Hepatomegalie. Später machen sich zunehmend die Zeichen der Pfortaderstauung bemerkbar wie das Auftreten von Kollateralvenen und Aszites sowie eine Enzephalopathie. Darüber hinaus haben Hepatitis B- und C-Virusträger ein signifikant erhöhtes Risiko, an einem primären **Leberzellkarzinom** zu erkranken.

11

11.6.1 Klinik und Pathophysiologie der Meningitis

Die Meningitis ist eine Entzündung der Leptomeningen mit dem dazwischen liegenden Subarachnoidalraum und geht mit einer erhöhten Zahl weißer Blutkörperchen im Liquor einher.

11.6.2 Bakterielle Meningitiden

Die wichtigsten bakteriellen Ursachen von akuten und chronischen Meningitiden und ihre prädisponierenden Faktoren sind in Tab. 11.9 zusammengefaßt.

Nach erfolgreicher Einführung der *Haemophi-*

Blut-Hirn-Schranke überwinden und Zugang zum ZNS erlangen, sind noch vollkommen unverstanden. Hingegen sind die pathophysiologischen Veränderungen im ZNS in ihrer Entstehung und Pathogenese der Infektion gut untersucht.

Verantwortlich für diese Veränderungen ist das LPS bei gram-negativen Meningitiserregern, bzw. Zellwand-Komponenten bei gram-positiven Erregern. Neben einem direkten zytotoxischen Effekt von LPS auf die Zellen der Blut-Hirn-Schranke induzieren beide bakteriellen Komponenten die Produktion verschiedener proinflammatorischer Zytokine, u.a. IL-1, IL-6, TNF-α und Komplement. Als Effektorfunktion ist diesen Zytokinen u.a. auch die Rekrutierung und der Einstrom von neutrophilen Granulozyten zuzuschreiben, die als zentrale zelluläre Komponenten der Pathogenese der Entzündungsreaktion gelten. Sie sind nicht nur verantwortlich für die Eliminierung der Erreger, sondern tragen zusammen mit der überschießenden Zytokin-Freisetzung zu den verhängnisvollen Veränderungen der Hirndurchblutung und des Glukose-Metabolismus des Hirns, der Ausbildung eines Gehirnödems und der veränderten Zusammensetzung des Liquors bei. Die Ausschüttung von IL-1 und TNF-α induziert die Expression von Adhäsionsmolekülen auf den Endothelzellen als Voraussetzung für die Diapedese der Leukozyten. Die Freisetzung von Oxidantien und anderen toxischen Substanzen aus Granula der Granulozyten führt zu einer weiteren Schädigung der Blut-Hirn-Schranke, die dabei funktionell mit dem Einstrom von Plasmaproteinen in den Liquor und dem Anstieg des intrakraniellen Drucks korreliert. Irreversible Schädigungen neuralen Gewebes, die sich beispielsweise in Hirnnervenlähmungen bemerkbar machen, gelten gleichfalls als Folge einer überschießenden, durch neutrophile Granulozyten vermittelten Abwehr. Die bei der Meningokokken-Infektion typischerweise anzutreffenden Hämorrhagien der Haut und innerer Organe haben ebenso ihren Ursprung in der LPS-vermittelten Zytokin-Freisetzung und Granulozyten-vermittelten Endothelzellschädigung der kleinen Blutgefäße mit einer sich daraus ergebenden überschießenden Aktivierung der Gerinnungskaskade, die in einer Verbrauchskoagulopathie mit allgemeiner Blutungsneigung mündet

Zwei Bakterien-Arten aus der Familie der Spirochäten, *Treponema pallidum* und *Borrelia burgdorferi*, finden sich als Ursache **akuter lymphozytärer Meningitiden.** Die Neurosyphilis ist nur noch selten anzutreffen. Hingegen ist die Affektion des ZNS durch *Borrelia burgdorferi* neben der Arthritis die häufigste Organmanifestation der Borreliose und erfolgt bereits zu einem sehr frühen Zeitpunkt nach der systemischen Ausbreitung. Der Übergang in eine chronische Verlaufsform mit klinisch sehr variablen Präsentationen ist häufig.

Die **tuberkulöse Meningitis** als Beispiel für die chronisch verlaufende bakterielle Meningitis findet sich am häufigsten im Rahmen einer Miliartuberkulose, resultiert aber auch aus der Ruptur alter tuberkulöser Herde und deren Entleerung in den Subarachnoidalraum. Die Diagnostik ist in diesem Fall erschwert, da bis zu 60% der Patienten zu Beginn der Erkrankung einen negativen TINE-Test aufweisen und der Erregernachweis wegen der sehr geringen Keimzahl nicht regelmäßig gelingt. Eine tuberkulöse Meningitis läßt sich in diesen Fällen nicht selten nur durch eine auf einer empirischen antituberkulösen Therapie beruhenden Besserung der Symptomatik diagnostizieren.

Die tuberkulöse Meningitis ist eine wichtige Ursache chronischer Meningitiden bei immunsupprimierten Patienten. Etwa 10% aller HIV-positiver Tuberkulose-Patienten erkranken an einer tuberkulösen Meningitis. Von ebenso hoher Bedeutung bei HIV-Patienten ist die chronisch verlaufende Meningitis, die durch den Sproßpilz *Cryptococcus neoformans* verursacht wird. Die ***Cryptococcus*-Meningitis** ist auch als häufigste Meningitis-Form bei nierentransplantierten und Leukämie- bzw. Lymphom-Patienten anzutreffen. Bei HIV-Patienten zeigt der Liquor dabei keine oder nur geringgradige entzündliche Veränderungen. Sekundäre Meningitiden im Rahmen von systemischen Pilzinfektionen mit *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* und *Blastomyces dermatitidis* finden sich ebenfalls assoziiert mit HIV-Infektionen.

Abszesse

Hirnabszesse, subdurale Empyeme und epidurale Abszesse treten am häufigsten in Zusammenhang mit angrenzenden eitrigen Herden (vorwiegend nasale Sinusitis, Otitis, Mastoiditis, dentale Infektionen) auf und werden entweder durch direkte Fortleitung durch den entzündlich veränderten Knochen oder retrograd über eine Thrombophlebitis der ableitenden Venen verursacht. Die hämatogene Streuung von entfernt liegenden Foci sowie Traumen (Schädeltraumen, penetrierende Verletzungen im Bereich der Wirbelsäule, chirurgische Eingriffe) spielen pathogenetisch ebenfalls eine Rolle. Bei den Erkrankungen handelt es sich um polymikrobielle Infektionen, bei denen fast regelmäßig Anaerobier (Peptostreptokokken, *Bacteroides* sp.) und mikroaerophile Streptokokken-Arten angetroffen werden. Eine Beteiligung von *Enterobacteriaceae*, Pneumokokken und *Haemophilus influenzae* ist möglich. *Staphylococcus aureus* ist das häufigste Isolat nach Schädeltraumen und chirurgischen Eingriffen. Die Therapie besteht in

der chirurgischen Entfernung des Abszesses und schließt die Gabe von Antibiotika, die sich nach dem kulturellen Untersuchungsergebnis richten muß, ein.

Diagnostische und therapeutische Maßnahmen

Bei Verdacht auf Meningitis ist neben der Blutkultur die Lumbalpunktion obligat und sollte vor Beginn einer Antibiotikagabe durchgeführt werden, um anhand des Zellbildes (und der Protein- und Glukose-Konzentration) die Verdachtsdiagnose zu bestätigen und zwischen einer akut-eitrigen bakteriellen Meningitis und einer lymphozytären Meningitis zu unterscheiden. Durch die Anfertigung eines GRAM-Präparats können bei ausreichend hoher Bakteriendichte (> 10^4/ml) bereits sehr frühzeitig Aussagen über das ätiologische Agens bakterieller Meningitiden gemacht werden. Antigennachweise, die auf dem Nachweis von bakteriellen Kapselpolysacchariden beruhen, gelten im Vergleich zum GRAM-Präparat als sensitiver und können insbesondere bei antibiotisch vorbehandelten Patienten und negativem Kulturergebnis zur Diagnosesicherung beitragen. Zusammen mit dem kulturellen Nachweis liegt die diagnostische Sensitivität von GRAM-Präparat und Antigennachweis bei > 90%. Voraussetzung dafür ist aber, daß eine antibiotische Therapie erst nach der Lumbalpunktion begonnen wird. Der Einsatz der PCR zur Diagnostik bakterieller Meningitiden gewinnt zunehmend an Bedeutung.
Die empirische antibiotische Therapie der akuten bakteriellen Meningitis bei noch fehlendem Erregernachweis richtet sich nach dem Lebensalter des Patienten und ggf. der zugrunde liegenden Erkrankungen. Die Antibiotika-Empfehlungen bei gesichertem Keimnachweis sind in Tab. 11.9 aufgeführt. Zusätzlich zur Antibiotikatherapie hat sich für die *Haemophilus influenzae* Meningitis die adjuvante Therapie mit Glukokortikoiden bewährt, die die überschießende Immunreaktion unterdrücken soll. Der Einsatz von Glukokortikoiden bei Meningitiden anderer bakterieller Genese ist jedoch umstritten.

11.6.3 Virale Meningitiden

der Fälle unerkannt. Die viralen Erreger erreichen das ZNS entweder über den hämatogenen oder den neuralen Weg. Grundsätzlich handelt es sich bei einem Befall des Zentralnervensystems durch einen viralen Erreger immer um eine Komplikation einer peripher ablaufenden Infektion. Erst nach Vermehrung am Orte der Eintrittspforte gelangt das Virus im Verlaufe einer Virämie oder transneural ins ZNS. Außer Virulenzfaktoren spielen Tropismus des Erregers und die Effektivität der Immunabwehr eine pathogenetische Rolle für das Zustandekommen eines Virusbefalls des Zentralnervensystems.

11.6.4 Virale Enzephalitiden

Die Krankheitssymptomatik ist vielgestaltig und abhängig von den befallenen Hirnregionen. Häufig treten neurologische Herdsymptome, Krampfanfälle und psychotische Episoden auf. Am häufigsten finden sich Enteroviren und Paramyxoviren als ursächliche Erreger. Klinisch am bedeutendsten sind Herpes simplex-Virusenzephalitiden. Diese verlaufen besonders schwer, sind jedoch in ihrer Mehrzahl einer Therapie zugänglich (s. Tab. 11.10). Wichtige diagnostische Maßnahmen viraler Enzephalitiden sind bildgebende Verfahren (kraniale Computertomographie, Magnetresonanztomographie, ebenso wie das Elektroenzephalogramm), die entzündliche Herde erkennen lassen. Die früher häufig angewandte Hirnbiopsie ist aufgrund der Verfügbarkeit nicht-invasiver diagnostischer Verfahren nur von untergeordneter Bedeutung. Sie ist dann indiziert, wenn anderweitig nicht identifizierbare entzündliche ZNS-Prozesse mit starker Progredienz unklarer Genese vorliegen. Eine virale Enzephalitis ist ein neurologischer Notfall, der rasches diagnostisches und therapeutisches Einschreiten notwendig macht. Je früher mit einer möglichen Therapie (z.B. gegen Herpes simplex-Virus) begonnen wird, um so geringer sind die Folgeschäden.

11.6.5 Slow-Virus-Infektionen

Slow-Virus-Infektionen (SVI) sind die Ursache chronischer Krankheitsprozesse, die vorwie-

Tab. 11.10 Virale Infektionen des Zentralnervensystems

Virusart	Krankheitsbilder	Verlauf	Antivirale Therapeutika
Herpes simplex-Virus	Enzephalitis	akut	Aciclovir und Valaciclovir
			Famciclovir
Varizella-Zoster-Virus	Meningitis, Enzephalitis, Zerebellitis	akut	Aciclovir und Valaciclovir
			Famciclovir
Epstein-Barr-Virus	Meningitis, Enzephalitis, Zerebellitis	akut oder subakut	Ganciclovir
Zytomegalievirus	Enzephalitis, Retinitis, Polyradikulitis	subakut	Ganciclovir
Humanes Herpesvirus 6	Enzephalitis	subakut	unbekannt
Herpesvirus simiae	Enzephalomyelitis	akut	unbekannt
JC Virus	progressive multifokale Leuko-enzephalopathie	chronisch progredient	unbekannt
Adenoviren	Meningoenzephalitis, Meningitis	akut	unbekannt
Mumpsvirus	Meningitis, Enzephalitis	akut	unbekannt
Masernvirus	akute postinfektiöse Enzephalo-myelitis;	akut	unbekannt
	SSPE	chronisch progredient	unbekannt
Parainfluenzavirus	Enzephalitis	akut	unbekannt
Influenzavirus	parainfektiöse Enzephalomyelitis	akut	unbekannt
Tollwutvirus	Enzephalitis	akut	unbekannt
HIV 1 und 2	Meningitis, Enzephalopathie	akut, chronisch	antiretrovirale Kombinations-therapie
FSME Virus	Meningitis, Enzephalitis	akut	unbekannt
Rötelnvirus	parainfektiöse Enzephalitis, Progressive Rötelnpanenzephalitis	akut chronisch	unbekannt
Poliomyelitisviren	Poliomyelitis, Enzephalitis	akut	unbekannt
Coxsackieviren (A)	Meningitis, Enzephalitis, zerebelläre Ataxie	akut	unbekannt
Coxsackieviren B1 – B5	Meningoenzephalitis	akut	unbekannt
Echoviren	Meningitis, Enzephalitis	akut	unbekannt

se ein akutes Krankheitsbild hervorrufen, sind SVI durch folgende Kriterien charakterisiert:

- monate- bis jahrelange Inkubationszeit
- ein zum Exitus letalis führender, langsam progredienter Krankheitsverlauf
- Limitierung des Krankheitsprozesses auf ein Organ bzw. Organsystem.

Tab. 11.11 faßt die Erkrankungen zusammen, die beim Menschen gefunden wurden. Zwei Gruppen von Erkrankungen werden aufgrund virologischer Befunde unterschieden. Die subakuten, chronischen Enzephalomyelitiden und die subakuten, spongioformen Enzephalopathien. Die erste Gruppe wird durch konventionelle Viren hervorgerufen, die zweite durch ein sog. infektiöses Protein (proteinaceous infectious agent), das als *Prion* bezeichnet wird (s. 6.21). Bei den durch konventionelle Viren hervorgerufene SVI findet man im Zentralnervensystem den Nachweis von Standardvirusstrukturen, Nukleinsäuregenome in Hirnzellen sowie virale Antigene. Die physikalische Stabilität dieser

11

Andere Helminthen-Infektionen mit ZNS-Beteiligung sind die zystische **Echinokokkose** und die **Trichinose.** Unter den durch Protozoen verursachten ZNS-Infektionen ist die zerebrale **Malaria** *(Plasmodium falciparum)* und die afrikanische **Trypanosomiasis** *(Trypanosoma brucei)* zu nennen, die sich durch Enzephalitiden bemerkbar machen. Die freilebenden Amöben aus den Gattungen *Naegleria* und *Acanthamoeba* verursachen schnell tödlich verlaufende

11.7 Sepsis

Reinhard Marre

Definition

Als Sepsis wird ein lebensbedrohliches Krank-

weils in 15 bis 20% aller Blutkulturen nachgewiesen. Bei der katheterassoziierten Sepsis stehen *Staphylococcus epidermidis* und andere koagulase-negative Staphylokokken im Vordergrund. Weitere wichtige Sepsiserreger sind *Enterococcus faecalis, Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae, Proteus, Enterobacter, Serratia*.

Bei Kenntnis des Sepsisherdes und der Anamnese läßt sich die Gruppe der relevanten Sepsiserreger eingrenzen.

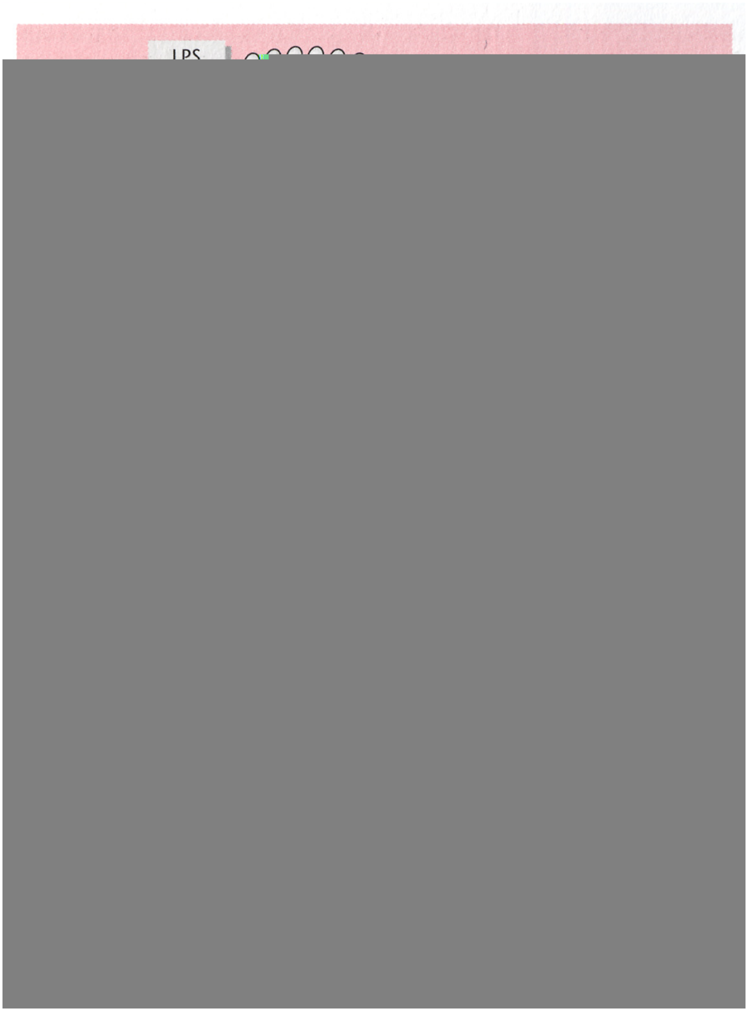
Im Neugeborenenalter entstehen Septikämien im Rahmen perinatal erworbener Infektionen,

tus, Alkoholismus, Nierenversagen, Schocklunge, hohem Alter. Dreiviertel der Todesfälle an septischem Schock treten innerhalb von wenigen Stunden bis zu wenigen Tagen nach dem Entstehen des Schocks auf und sind meist auf einen therapierefraktären Blutdruckabfall zurückzuführen. Ein Viertel der Todesfälle sind vermutlich Folge des multiplen Organversagens.

11.7.2 Pathophysiologie

Auslöser des septischen Schocks sind Bestandteile von Mikroorganismen, die in die Blutbahn eingeschwemmt werden.

11



druckabfall, Tachykardie, petechiale Hautblutungen, Hyperbilirubinämie, Zyanose, kardiogene Lungenstauung) zu diagnostizieren. Einige der mikrobiell bedingten septischen Komplikationen (z.B. Endokarditis, Endophthalmitis) werden nur bei sehr sorgfältiger, gezielter körperlicher Untersuchung entdeckt. Die Laboruntersuchungen ergeben Hinweise auf die Intensität des Entzündungsprozesses (Leukozytose oder Leukopenie, „Linksverschiebung", Thrombozytopenie, Erhöhung des C-reaktiven Proteins, Erhöhung der Blutsenkungsgeschwindigkeit) und auf die Organbeteiligung (metabolische Azidose, Kreatininerhöhung, Bilirubinerhöhung).
Auf der körperlichen Untersuchung, der Anamnese und den Laborbefunden bauen sich die weiteren diagnostischen und therapeutischen Vorgehensweisen auf. Dazu ist es wichtig zu entscheiden, welches die wahrscheinlichste Sepsisursache ist, mit welchem Erregerspektrum bei dem einzelnen Patienten zu rechnen ist (s.o.) und mit welchen Untersuchungsmaterialien und -verfahren ein Nachweis des Infektionserregers am ehesten möglich ist.

11.7.4 Mikrobiologische Diagnostik

Vor Beginn einer antimikrobiellen Chemotherapie sollten Untersuchungsmaterialien zum Nachweis des Infektionserregers gewonnen werden.

Dazu eignen sich **Blutkulturen** (1–2 Blutkulturflaschenpaare, jeweils für den Nachweis aerober und anaerober Bakterien), die in der Fieberphase gewonnen werden. Sofern aus klinischer Sicht eine Antibiotikatherapie bereits vor Entnahme des Untersuchungsmaterials begonnen werden mußte, sollten für die Entnahme der Blutkulturen die Talspiegel der Antibiotika abgewartet werden.

Bestehen Hinweise auf einen Sepsisherd (Meningitis, Pneumonie, Harnwegsinfekt, Hautabszesse), sollte gezielt Untersuchungsmaterial (Liquor, Trachealsekret, bronchoalveoläre Lavage, Urin, Abszeßpunktat) für den mikroskopischen und kulturellen Erregernachweis gewonnen werden.

Der mikroskopische Erregernachweis hat den Vorteil, daß ein Untersuchungsergebnis, welches als Grundlage für die Chemotherapieentscheidung verwendet werden kann, schnell zur Verfü-

Der Nachweis einer Endotoxinämie ist prinzipiell möglich, methodisch jedoch mit so vielen Problemen behaftet, so daß er sich bislang nicht durchsetzen konnte.

11.7.5 Therapie

Die Behandlung der infolge der Sepsis auftretenden Störungen von lebenswichtigen Organfunktionen und der Blutgerinnung entspricht der Therapie vergleichbarer Funktionsstörungen aus anderer Ursache und wird in internistischen Lehrbüchern ausführlich dargestellt. Wenn ein Infektionsherd inzidiert, punktiert oder drainiert werden kann, sollten frühzeitig die Möglichkeiten einer chirurgischen Intervention abgeklärt werden. Falls leicht zu entfernende intravenöse Katheter oder Blasenkatheter Infektionsursache sind, sollten diese entfernt werden.

Die antibakterielle Chemotherapie soll frühzeitig, effektiv und so gezielt wie möglich erfolgen.

Um eine rasche Anflutung von Wirkstoffen zu erreichen und wegen der Unsicherheiten einer enteralen Resorption unter dem Bild eines septischen Schocks, müssen die Antibiotika parenteral verabreicht werden. Eine hohe therapeutische Sicherheit wird mit Breitspektrumantibiotika erreicht (Tab. 11.13). Es sind dies in aller Regel sog. Breitbandpenicilline (z.B. Mezlocillin, Piperacillin), moderne Cephalosporine (Cefotaxim, Ceftriaxon) oder Carbapeneme (Imipenem, Meropenem). Zur Verbesserung der Wirksamkeit bei β-Laktamasebildenden Enterobakterien und Staphylokokken sollte das Piperacillin mit einem β-Laktamaseinhibitor (z.B. Tazobactam) kombiniert werden. Eine andere mögliche Kombination wäre Amoxicillin mit Clavulansäure. Zur Verbesserung des bakteriziden Effektes sind auch Kombinationen mit Aminoglykosiden (z.B. Gentamicin, Tobramycin oder Amikacin) indiziert. Eine Alternative zu den β-Laktamantibiotika sind moderne Chinolone (z.B. Ciprofloxacin, Ofloxacin, Levofloxacin oder Trovafloxacin) und Glykopeptide wie z.B. Vancomycin.

Literatur

RIETSCHEL, E. T. und P. ZABEL: Sepsis. In: MARRE, R.,

11

für retrograde Infektionen dar. Darüber hinaus können Erreger durch Manipulationen des Harnableitungssystems über Urinreflux in die Harnblase gelangen. Das Keimspektrum bei Katheter-assoziierten Infektionen umfaßt *E. coli* (35%), Enterokokken (10%), *P. aeruginosa* (10%), Koagulase-negative Staphylokokken, *Proteus spp.*, Hefen (25%) u.a. Eine kurze Verweildauer von Blasenkathetern, strikte Hygieneregeln bei der Katheterisierung und Pflege des Harnableitungssystems sind die wichtigsten Maßnahmen zur Verhütung der Katheter-assoziierten HWI.

11.9.2 Epidemiologie

HWI gehören zu den häufigen bakteriellen Infektionen. In den USA wird mit 8 Millionen und in Deutschland mit 1,5–2 Millionen HWI pro Jahr gerechnet. In den meisten Fällen handelt es sich um eine unkomplizierte Zystitis bei Frauen im Alter von 10–40 Jahren. Bei Frauen werden auch gehäuft rezidivierende Harnwegsinfektionen beobachtet, wobei es sich i.d.R. um Neuinfektionen mit *E. coli* handelt. Im höheren Alter (ab 50 Jahre) nehmen HWI auch bei Männern stark zu. Nicht selten werden auch asymptomatische Bakteriurien ($\geq 10^5$ Bakterien/ml) festgestellt, deren Vorkommen bei alten Menschen durch Antibiotikatherapie kaum beeinflußt wird.

Auch wenn es sich bei Erregern von HWI sehr häufig um Bakterien der normalen Darmflora handelt, so konnte gerade bei den *E. coli*-Urinisolaten eine Häufung von bestimmten Pathogenitäts- und Fitnessfaktoren festgestellt werden, die die Uropathogenität dieser Isolate (uropathogener *E. coli*, UPEC-Pathotyp) begründen und eine Differenzierung von anderen Darm-*E. coli* zulassen. Hierzu gehören folgende UPEC-Eigenschaften und Serovaritäten (Abb. 11.7):

■ Fimbrielle Adhäsine:	P-Fimbrien (Gal(α1,4)-Gal-spezifisch), S-/F1C-Fimbrien (N-Acetylneuraminsäure-spezifisch)
■ Porenbildendes Toxin:	Hämolysin
■ Polysaccharidkapsel:	K1, K5, K15
■ Eisenkomplexone (Siderophore):	Aerobactin, Yersiniabactin

Darüber hinaus kommen bestimmte O-Serovare gehäuft bei UPECs vor wie O1, O2, O4, O6, O7, O18 und O75. Die Adhäsine bewirken die „Verankerung" der *E. coli* an das Harnwegsepithel. Hämolysine wirken als Toxine auf Epithelzellen und Phagozyten. Schutz gegen Komplementlyse und Phagozytose wird durch Kapselbildung erzielt. Die Siderophorproduktion stellt die Eisenversorgung des Bakteriums im Urin, Gewebe und Blut sicher (Eisennutzung aus Transferrin und Laktoferrin des Wirts).

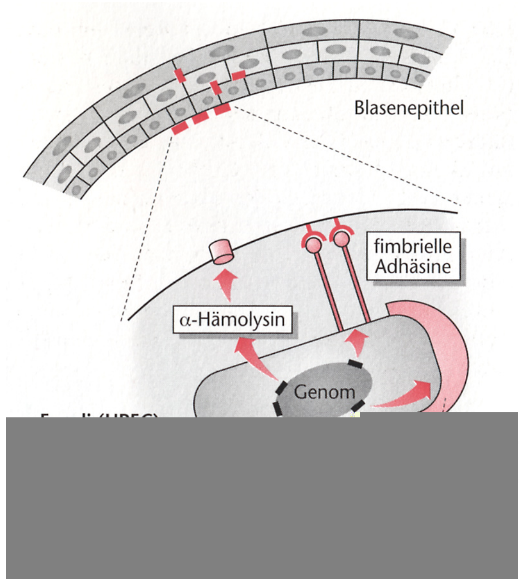


Abb. 11.7 Schematische Darstellung der Infektion von Harnblasenepithel mit *Escherichia coli* vom Pathotyp UPEC. Dargestellt sind die wichtigsten Pathogenitätsfaktoren von UPEC: fimbrielles Adhäsin, Polysaccharidkapsel, α-Hämolysin, Siderophor-vermittelte Eisen-(Fe^{3+})Aufnahme. *E. coli* kolonisiert nicht nur extrazellulär lokalisiert das Blasenepithel, sondern kann auch in Epithelzellen eindringen (intrazelluläres Überleben).

11.9.3 Laboratoriumsdiagnose

Die mikrobiologische Diagnostik der Harnwegsinfektionen befaßt sich im wesentlichen mit der Quantifizierung der Keimzahl im Urin, der Erregeridentifizierung und der Bestimmung des Antibiogramms. Mittelstrahlurin (gewonnen nach Reinigung des Genitalbereichs), Katheter- oder Punktionsurin werden zur Mikroskopie (Leukozyten, Epithel, Mikroorganismen u.a.) und zur Anzucht und Quantifizierung der Erreger im Urin verwendet. Bei längeren Transportzeiten (> 2 Stunden) sollte der Urin gekühlt werden. Eine signifikante Bakteriurie liegt bei $\geq 10^5$ Bakterien/ml (koloniebildende Einheiten,

KBE) vor, wobei es sich in der Regel um eine Reinkultur handeln sollte (anderenfalls besteht der Hinweis auf Kontamination). Bei Punktions- oder Katheterurin gelten niedrigere Signifikanzwerte (> 10^2 KBE). Auch wird bei Frauen mit akuter Dysurie eine Reinkultur mit Keimzahlen von > 10^2 *E. coli*/ml als signifikante und therapiebedürftige Bakteriurie diskutiert. Die Antibiotikatherapie richtet sich nach dem Antibiogramm, wobei Antibiotika mit bevorzugter Anreicherung in den Harnwegen empfohlen werden (Cotrimoxazol, Fluorchinolone, Amoxicillin + Clavulansäure, Doxycyclin).

Literatur

JOHNSON, J. R.: Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. Clin. Microbiol. Rev. **4** (1991) 80–128.

KUNIN, C. M.: Urinary tract infections in females. Clin. Infect. **18** (1994) 1–12.

LIPSKY, B. A.: Urinary tract infections in men. Ann. Intern. Med. **110** (1989) 138–150.

MÜHLDORFER, I. and J. HACKER: Genetic aspects of *Escherichia coli* virulence. Microb. Pathogen. **16** (1994) 171–181.

NORRBY, S. R.:Short-term treatment of uncomplicated lower urinary tract infections in women. Rev. Infect. Dis. **12** (1990) 458–467.

PLATT, R., B. F. POLK, B. MURDOCK, and B. ROSNER: Risk factors for nosocomial urinary tract infection. Amer. J. Epidemiol. **124** (1986) 977–985.

STAMM, W. E. and T. M. HOOTON: Mangement of urinary tract infections in adults. N. Engl. J. Med. **329** (1993) 1328–1334.

11.10 Genitalinfektionen

WOLFGANG BREDT

Der Genitaltrakt des Menschen bietet sehr komplexe Voraussetzungen für das Angehen und die Ausbreitung von Infektionen. Die Erreger können gleichsam durch vorgegebene Kanäle vom distalen Bereich bis in komplexe Organsysteme aufsteigen und über das oben offene System der Tuben sogar in den freien Bauchraum gelangen. Entsprechend müssen sie sich den verschiedenen zu besiedelnden Epithelien vom Plattenepithel über Uroepithel zu den Epithelien der Samenwege bzw. vom Vaginalepithel zu den unterschiedlichen Epithelien von Zervix oder Tuben anpassen. Je nach Lokalisation entsteht dabei eine sehr unterschiedliche Symptomatik. Als Spätschäden können insbesondere bei chronischen Infektionen durch narbigen Verschluß dieser Hohlsysteme Sterilität oder Extrauteringravidität ausgelöst werden. Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß durch hormonale Veränderungen (Menstruation, Schwangerschaft) oder langdauernde Fremdkörpereinlagen (IUP) lokale Resistenzminderungen auftreten. Umgekehrt besteht im weiblichen Genitaltrakt mit der vaginalen Normalflora eine sehr wirksame Barriere gegen die Ansiedlung fremder Keime.

Die meisten Infektionen des Genitalbereiches werden durch sexuelle Kontakte übertragen (sexually transmitted diseases = STD) und manifestieren sich an der Kontaktstelle oder im Organbereich bzw. Lymphabflußsystem. Eine Generalisierung findet nur bei wenigen Infektionen statt, z.B. bei Syphilis, gelegentlich auch bei Gonorrhoe. Meist handelt es sich um sehr empfindliche und hochspezialisierte Erreger, die ihr Reservoir nur im Menschen haben (Beispiele sind *T. pallidum, C. trachomatis, N. gonorrhoeae, T. vaginalis)* und wegen der direkten Übertragung keine Dauerformen benötigen. In einigen Fällen können auch endogene Keime aszendieren (Harnwegserreger bei Prostatitis) oder die Infektion erfolgt hämatogen (z.B. Tuberkulose), ohne daß eine sexuelle Übertragung vorliegt. Schließlich werden einige wenige Erreger wie HBV oder HIV zwar auch oder vorwiegend sexuell übertragen, sie manifestieren sich jedoch in anderen Bereichen des Körpers. Normalflora sowie transiente Besiedler des weiblichen Genitale spielen darüber hinaus noch eine Rolle für Chorioamnionitis und Infektionen des Kindes perinatal oder postpartal. Beispiele sind die gehäufte Chorioamnionitis bei bakterieller Vaginose sowie die Infektionen durch B-Streptokokken. Weitere Keime können dem Neugeborenen mitgegeben werden und perinatale Infektionen auslösen, so z.B. die Neugeborenenkonjunktivitis durch Gonokokken oder *C. trachomatis* sowie die Neugeborenenpneumonie durch *C. trachomatis,* Infektionen mit *M. hominis* und Ureaplasmen sowie Herpes oder Syphilis.

11.10.1 Haut im weiteren Genitalbereich

Bei schlechten hygienischen Verhältnissen ist auf Befall mit **Krätzemilben** (*Sarcoptes scabiei*) oder die **Filzlaus** (*Phthirus pubis*) zu achten.

Charakteristisch für die Krätze sind die Milbengänge, bei der Filzlaus finden sich kleine bräunliche Flecken (taches bleues, Maculae caeruleae).

11.10.2 Haut und Schleimhäute des äußeren Genitale

Eitererreger wie Staphylokokken oder Streptokokken, aber auch Darmkeime sowie Sproßpilze können uncharakteristische Bilder verursachen **(Balanitis, Vulvitis).** Differentialdiagnostisch kommen erosive Entzündungen ungeklärter Ätiologie in Frage (siehe Lehrbücher der Dermatologie).
Bei warzenartigen Gewebewucherungen kann die Differentialdiagnose oft anhand der Form gestellt werden: **spitze Kondylome** (Condylomata acuminata) werden durch Papillomviren verschiedener Typen verursacht, bei **breitbasigen Kondylomen** (Condylomata lata) ist stets an Syphilis II zu denken.
Multiple juckende oder schmerzhafte **Bläschen** werden meistens durch Herpes simplex-Virus (überwiegend Typ 2) hervorgerufen, die Primärläsion ist klinisch besonders intensiv. **Multiple flache Papeln** können Symptome einer Syphilis im Stadium II sein, eher **singuläre kleine Papeln** oder Bläschen können auch seltener einmal die Primärläsion eines Lymphogranuloma venereum (LGV) darstellen, selten die frische Läsion eines Ulcus molle oder noch seltener eines Granuloma inguinale. Aphtenähnliche **Schleimhauterosionen** können durch unspezifische Infektionen bedingt sein, insbesondere bei entsprechender Reiseanamnese ist auch an Primärläsionen eines Lymphogranuloma venereum zu denken, eventuell an Herpesläsionen. Wichtig ist die diagnostische Abklärung einer Syphilis I. Bei Syphilis II, aber auch LGV können die regionären Lymphknoten vergrößert sein, ebenso bei Ulcus molle, nicht aber bei Granuloma venereum.
Bei ausgesprochenen Ulzerationen ist die Schmerzhaftigkeit ein wichtiges Kriterium: Das Ulcus durum (harter Schanker) der Syphilis I ist schmerzlos, dagegen ist das Ulcus molle bei Berührung schmerzhaft. Bei multiplen **geschwürigen Läsionen** muß auch an ulzerierte Herpesbläschen gedacht werden. Das seltene Granuloma inguinale beginnt dagegen mit kleinen Pusteln, die spätere Läsion zeigt eher granulomatöse Wucherungen mit zerfallenden Bezirken.

Eine **Bartholinitis** wird überwiegend von Gonokokken oder anaeroben Bakterien, aber auch von *M. hominis* verursacht.
Untersuchungsmaterialien sind je nach Art der Läsion Abstriche, Eiterproben oder Biopsien, für Syphilis oder LGV wird auch eine Serumprobe benötigt.

11.10.3 Urethra

Bei einer **akuten eitrigen Urethritis** ist immer an eine Gonorrhoe zu denken, aber auch „unspezifische" Erreger (Streptokokken bzw. Enterokokken, Staphylokokken, *E. coli* u.a.) können die Ursache sein. Bei eher weißlichem Sekret ist eine Trichomoniasis möglich. Häufigste Ursache der sog. **nicht-gonorrhoischen (NGU)** oder **postgonorrhoischen (PGU) Urethritis** ist *Chlamydia trachomatis* (Serovare D–K). In seltenen Fällen können auch Ureaplasmen beteiligt sein. Da bei der Gonorrhoe nicht selten eine Mischinfektion vorliegt, sollte stets auf eine PGU geachtet werden. NGU und PGU produzieren meist nur wenig weißes muköses Sekret. Kann trotz intensiver Suche kein ätiologisches Agens gefunden werden, so muß auch an eine Urethritis bei Morbus Reiter gedacht werden (Konjunktivitis, Urethritis, Arthritis).
Geeignetes Untersuchungsmaterial ist meist das Urethralsekret bzw. ein Urethralabstrich. Für die Chlamydien-Diagnose durch LCR ist Strahlurin (erste Portion) eine für die Patienten angenehmere Alternative.

11.10.4 Prostata und Epididymis

Die männlichen Adnexe werden meist aufsteigend von einer Urethritis oder einem Harnwegsinfekt her infiziert. Erreger der **akuten Prostatitis** mit Fieber und starken Schmerzen im Dammbereich sind meist *E. coli* bzw. Enterobakterien, daneben *N. gonorrhoeae*, Ureaplasmen, seltener Staphylokokken, sporenlose Anaerobier oder sonstige anspruchsvolle Keime. Die Beteiligung von *C. trachomatis* ist umstritten. Bei der **chronischen Prostatitis** mit eher uncharakteristischen Beschwerden lassen sich häufig keine Keime nachweisen, einige Autoren fanden jedoch mit aufwendigen Kulturverfahren und PCR auch hier bakterielle Erreger im Prostatasekret. Da bei der akuten Prostatitis eine Sekretgewinnung durch Prostatamassage nicht möglich ist,

sind Urin- und ggf. Blutkultur die Methode der Wahl. Bei der chronischen Prostatitis sind aufwendige Verfahren (Erst- und Mittelstrahlurin, Sekret, Urin nach Prostata-Massage) angezeigt. Wichtig ist in jedem Fall die quantitative Kultur, die Keimzahl sollte im Sekret um > 1 log-Stufe und im Massageurin mindesten 1 log-Stufe höher liegen.
Die oft sehr schmerzhafte **Epididymitis** ist häufig Folge einer Gonorrhoe oder einer *C. trachomatis*-Infektion, seltener ist sie durch Ureaplasmen verursacht. Differentialdiagnostisch ist stets auch an die Tuberkulose zu denken. Folge der Epididymitis ist häufig eine Sterilität durch Verschluß der Samenwege. Untersuchungsmaterial sind Ejakulat oder Punktat.

11.10.5 Vagina und Zervix

Störungen der physiologischen Besiedlung im Bereich der Vagina können uncharakteristische Symptome verursachen, ohne daß bestimmte Erreger beteiligt sind. Eine Sonderform ist die **bakterielle Vaginose** oder **Aminkolpitis,** die weniger durch entzündliche Symptome als durch Geruchsprobleme das Befinden der Patientin beeinträchtigt. Ursache ist ein fischartiger Geruch des grauweißlichen Fluors durch eine Fehlbesiedlung der Vagina mit aeroben und anaeroben Keimen unter Hauptbeteiligung von *Gardnerella vaginalis.* Weißlich-schaumiger Fluor mit stärkerer entzündlicher Symptomatik kann auch eine Infektion mit *Trichomonas* hindeuten. Gelegentlich können auch einzelne Bakterienarten z.B. B-Streptokokken eine Kolpitis verursachen. Stets ist auch an eine Gonorrhoe zu denken. Nicht selten wird eine **Vulvovaginitis** durch *Candida albicans* verursacht, insbesondere bei der hormonellen Umstellung in der Schwangerschaft. Bei Entzündungen der Zervix kommen als Erreger vor allem Gonokokken und *Chlamydia trachomatis* in Betracht. Ein zervikaler Fluor kann aber auch Folge einer **Endometritis** sein, entweder verursacht durch *N. gonorrhoea,* oder – nach unsterilen Manipulationen, bei länger liegenden Intrauterinpessaren oder ohne erkennbare Ursache – als aszendierende Infektion durch Anaerobier, Staphylokokken oder andere „unspezifische" Keime. Untersuchungsmaterialien sind Vaginal- oder Zervixabstriche, wobei letztere unter Sicht und ohne Kontamination durch Vaginalsekret entnommen werden müssen.

11.10.6 Tuben und Bauchraum

Infektionen des inneren Genitalbereiches (Vagina, Zervix) führen sowohl bei sexuell übertragenen Erkrankungen als auch bei endogener Entstehung häufig zu Mitbeteiligung der Tuben **(Salpingitis,** „pelvic inflammatory disease" bzw. PID). Symptome sind vor allem länger dauernde Unterbauchschmerzen und Fieber. Bei längerem Bestehen oder Rezidiven sind häufig durch Verlegung des Tubenlumens eine Sterilität oder Extrauterinschwangerschaft die Folge. Selten kann sich einmal eine Infektion der Bauchhöhle mit Perihepatitis (Curtis-Fitz-Hugh-Syndrom) und unklaren Beschwerden im rechten Oberbauch entwickeln. Erreger der **Adnexitis** sind vor allem *C. trachomatis* (≥50%), *N. gonorrhoeae* und sporenlose Anaerobier, letztere vermehrt bei älteren Frauen. Daneben muß stets auch an eine Tuberkulose oder Aktinomykose gedacht werden. Der Erregernachweis kann aus steril entnommenen Proben (z.B. bei Laparoskopie) versucht werden, der Keimnachweis in Vagina oder Zervix ist nicht immer beweisend.

11.10.7 Laboratoriumsdiagnose

Die Strategie der Diagnostik bei Genitalinfektion muß sich nach der Art der vermuteten Erreger richten. Wichtig ist eine sorgfältige Anamnese. Bei Verdacht auf STD soll stets an die nicht seltenen Mehrfachinfektionen gedacht werden. Die Untersuchungsmethoden müssen sich nach Gegebenheiten des Entnahmeortes richten. Bei primär besiedelten Bereichen wie dem vorderen Drittel der Urethra oder der Vagina müssen in der Regel Selektivnährböden eingesetzt werden, während bei primär sterilen Organen alle Keimarten als potentielle Erreger angesehen werden können.

Vorgehen bei einzelnen Erregerarten

Papillom-Viren: Nachweis des Genoms durch Sonden oder PCR, ggf. mit Typisierung.
Herpes-Virus: Nur bei entsprechender Indikation zur Diagnostik sollte der Erreger durch PCR/Kultur oder – bei Erstinfektionen – durch Serokonversion nachgewiesen werden.
T. pallidum: In erster Linie Nachweis der Antikörper durch Such- und Bestätigungstest (TPHA, FTA-Abs.), bei frischen Ulzerationen oder Läsionen der Lues II kann der Erfahrene

T. pallidum auch mit Dunkelfeld- oder Fluoreszenzmikroskopie nachweisen.
N. gonorrhoeae: Neben der insbesondere bei der Urethritis des Mannes möglichen mikroskopischen Verdachtsdiagnose sollte auf jeden Fall eine Kultur (Kochblut-Selektivnährböden) versucht werden, um eine Resistenzbestimmung durchführen zu können. Bei Reihenuntersuchungen besonders in Risikopopulationen sind auch Antigennachweise möglich (EIA). Materialien für den Erregernachweis sind vor allem eitrige Urethral- und Zervixabstriche, seltener Vaginalabstriche; weiterhin Eiter bei Bartholinitis, eventuell laparoskopisch entnommene Materialien. Bei entsprechender Anamnese sind bei der Frau als sekundäre Entnahmeorte auch Rektum-, Urethra- und Rachenabstriche angezeigt, beim Mann Rachenabstriche. Bei disseminierten gonorrhoischen Infektionen Blutkulturen und bei Vorliegen einer Arthritis Gelenkflüssigkeit.
C. trachomatis: Methoden der Wahl sind primär Antigennachweis (IF, EIA) und Amplifikationsmethoden (PCR, LCR), wobei in Populationen mit niedrigen Prävalenzen positive Befunde bestätigt werden sollten. Die Anzüchtung in der Zellkultur ist wegen des erhöhten Aufwandes nicht mehr Routineverfahren. Bei der Adnexitis ist ein Erregernachweis aus der Zervix stets nur ein Hinweis, nicht jedoch ein Beweis für die ursächliche Rolle des gefundenen Keimes. Die **Serologie** hat bei unkomplizierten Infekten des unteren Genitalbereiches keine Bedeutung. Bei Adnexitis und vor allem ihren Spätfolgen (Sterilität) können erhöhte artspezifische Antikörpertiter gegen *C. trachomatis* (z.B. MIF) jedoch einen wichtigen Hinweis auf die mögliche Ätiologie geben. Gegebenenfalls kann eine Aviditätsbestimmung durchgeführt werden.
Beim *Lymphogranuloma venereum* steht die Serologie meist mit gattungsspezifischem Antigen im Vordergrund („Ornithose"-KBR, Immunfluoreszenz). Ein Erregernachweis durch DIF oder Anzüchtung in Zellkultur ist möglich, wird jedoch selten eingesetzt.
Haemophilus ducreyi: Beim *Ulcus molle* kann zunächst der mikroskopische Nachweis gramnegativer kokkoider Stäbchen hinweisend sein. Die Kultur ist auf Kochblutagar eventuell mit Vancomycinzusatz möglich, sie benötigt ≥ 10 Tage.
Calymmatobacterium granulomatis: Beim *Granuloma inguinale* sind bisher keine Standardmethoden entwickelt worden. Die Diagnose wird mikroskopisch anhand oft intrazellulärer bipolarer Stäbchen gestellt.
Gardnerella vaginalis: Charakteristisch für die *Vaginose* sind die sog. Schlüsselzellen (clue cells), Epithelien, die dicht mit gram-negativen und gram-labilen Stäbchen besetzt sind. Durch Zugabe eines Tropfens 10%iger KOH zum Vaginalsekret entsteht ein kräftiger Fischgeruch. Wenn erforderlich, kann *G. vaginalis* auf Standardnährböden anaerob angezüchtet werden.
Mycoplasmen und Ureaplasmen: Die quantitative Kultur auf Spezialnährböden in mikroaerophiler/anaerober Atmosphäre ist relativ problemlos möglich. Kommerzielle Systeme nutzen den Indikatorumschlag im flüssigen Medium aus. Die Serologie ist ungeeignet. Das Vorkommen von *M. hominis* in der Vagina hat keine pathogenetische Bedeutung.
„Unspezifische" Erreger: Enterokokken, Anaerobier, Sproßpilze und andere Arten werden durch Kultur auf geeigneten Nährböden nachgewiesen.

11.10.8 Therapie

Die Anwendung antimikrobieller Substanzen erfolgt nach den üblichen Grundsätzen (siehe die Kapitel für die einzelnen Erreger). Besonders bei sexuell übertragenen Infektionen wird wegen der oft fehlenden Compliance, wenn möglich, eine Einmaldosis gegeben (z.B. Azithromycin bei *C. trachomatis).* Bei der Gonorrhoe ist wegen der inzwischen häufigen Resistenz gegen verschiedene Antibiotikagruppen ein Antibiogramm und ggf. die Kenntnis der lokalen Resistenzsituation erforderlich. Bei oberflächlichen Infektionen z.B. Vaginosis oder Candida-Kolpitis, ist eine lokale Therapie möglich. Bei rezidivierender Prostatitis muß ggf. ein ursächlicher Harnwegsinfekt oder eine Urethritis saniert werden.

Literatur

Domingue, G.J., W.J.G. Hellstrom: Prostatitis. Clin. Microbiol. Rev. 11 (1998) 604–613.
Mandell, G.L. (ed.): Principle and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Churchill Livingstone New York 2000.
Petersen, E. E.: Infektionen in Gynäkologie und Geburtshilfe. 3. Aufl. Thieme, Stuttgart 1997.

11.11 Infektionen bei Immunschwächen (einschließlich AIDS)

Joachim Denner, Reinhard Kurth

Einleitung

Immunschwächen werden in **angeborene,** also in genetisch bedingte Erkrankungen, und in **erworbene** Immunschwächen eingeteilt. Die angeborenen Immunschwächen kann man in Abhängigkeit von den betroffenen Immunzellen unterteilen. Dabei können sowohl die Antigen-spezifische, d.h. die induzierte humorale oder zelluläre Immunität, als auch die unspezifischen Abwehrmechanismen betroffen sein. Die erworbenen Immunschwächen werden in virusbedingte, chemisch und physikalisch-induzierte unterteilt. Tumorerkrankungen, Verbrennungen, ver-

bei der Behandlung von Tumoren oder einer gezielten Immunsuppression bei Organtransplantationen. Physikalisch bedingte Immunschwächen werden nach Strahlentherapien in der Krebsbehandlung beobachtet. Ein Vergleich von AIDS mit anderen erworbenen Immunschwächen sowie mit den angeborenen Immunerkrankungen kann zur Aufklärung des Pathogenitätsmechanismus der Immundefizienzviren beitragen. Untersuchungen der erworbenen und angeborenen Immunschwächen können zum besseren Verständnis der Funktion des Immunsystems führen.

11.11.1 AIDS: Definition

Das durch HIV hervorgerufene erworbene Immunschwächesyndrom **AIDS (a**cquired **i**mmuno**d**eficiency **s**yndrome) hat aufgrund seiner weltweiten Ausbreitung und der großen Zahl der Erkrankten ein hohes wissenschaftliches In-

zierenden B-Zellen und eine Hypergammaglobulinämie verschleiert. AIDS wird wie jede Immunschwäche von Tumoren und vor allem von opportunistischen Infektionen begleitet. **Opportunistische Infektionen** werden bei immunsupprimierten Patienten durch Mikroorganismen hervorgerufen, die ubiquitär vorkommen, bei gesunden, immunkompetenten Individuen aber nicht pathogen wirken. Ein charakteristisches Merkmal der HIV-Infektion ist die Abnahme der naiven $CD4^+$- und $CD8^+$-Zellen, die Gesamtzahl der $CD8^+$-Zellen nimmt zu Beginn der Infektion jedoch zu. Die ersten AIDS-Fälle wurden Anfang der 80er Jahre in den USA beobachtet; HIV-1 wurde 1984, HIV-2 1986 zum ersten Mal beschrieben.

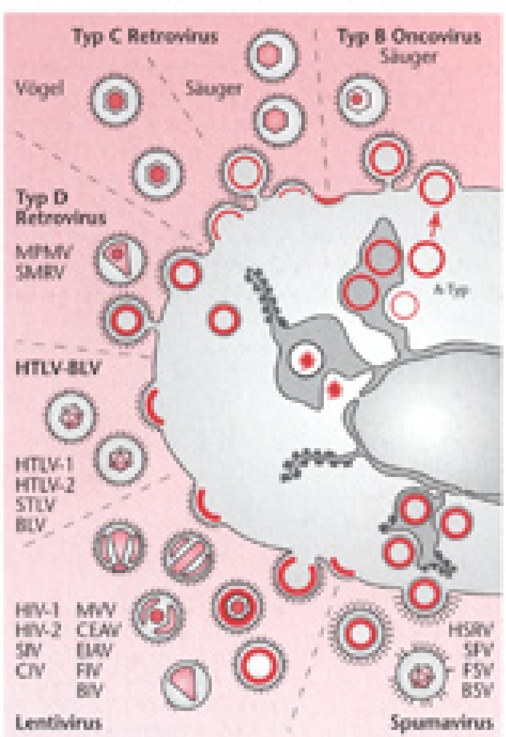


Abb. 11.8 Schematische Darstellung der morphogenetischen Feinstrukturen der sieben Subfamilien der Retroviren. Die Familien lassen sich durch unterschiedliche Reifungsmechanismen an der Plasmamembran der Wirtszelle sowie durch unterschiedliche Kernstrukturen unterscheiden. Der AIDS-Erreger (HIV) gehört zu den Lentiviren (das Schema wurde freundlicherweise von H. Gelderblom, Robert Koch-Institut Berlin, überlassen).

11.11.2 Eigenschaften der AIDS-Erreger

Klassifizierung

Die humanen Immundefizienzviren HIV-1 und HIV-2 gehören zu den Lentiviren. Verwandte Lentiviren kommen bei Affen (simiane Immundefizienzviren SIV), Katzen, Pumas und Löwen (feline Immundefizienzviren FIV) sowie Rindern (bovine Immundefizienzviren BIV) vor. Lentiviren wiederum gehören zu den Retroviren (s.a. Kap. 6.20). Weitere Subfamilien der Retroviren (Familie Retroviridae) sind die Onkoviren, die morphologisch in Typ A-, B-, C- und D- Retroviren unterteilt werden, und die Spumaviren (Abb. 11.8).

Morphologie

Retroviren sind umhüllte RNA-Viren mit einem Durchmesser von 80–120 nm. Wie bei allen Retroviren kann man bei HIV elektronenmikroskopisch deutlich die Lipidhülle erkennen, die beim Abschnüren („budding") von der Zellmembran erworben wird (Abb. 5.7 m/n, 6.36, 11.8 und 11.9). In der Lipidhülle sind die viralen Hüllproteine als Trimere verankert (Knöpfe, „knobs"). Das Abschnüren beginnt an einer Stelle mit erhöhter Akkumulation von Hüll- und Kernproteinen, später findet eine Reifung der Viren statt, die auf der proteolytischen Spaltung

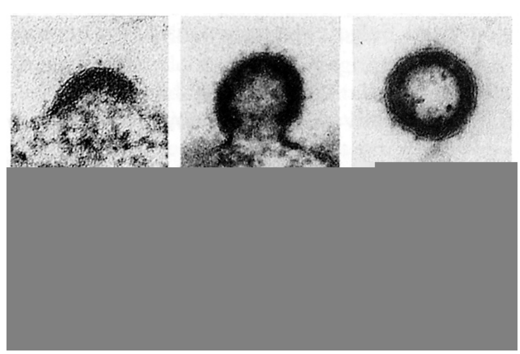


Abb. 11.9 Knospungsprozeß des AIDS-Virus (HIV). Von links nach rechts unten ist das fortschreitende Abschnüren von der Plasmamembran des infizierten Lymphozyten sichtbar. Das HIV gehört zur Gruppe der Lentiviren mit konischem Kern, der je nach der Ebene des Dünnschnittes im Elektronenmikroskop rund oder kegelförmig erscheint. Das Virus rechts unten ist im Begriff wieder eine neue Zelle zu befallen. Vergrößerung 80.000fach. Aufnahmen: Dr. K. Boller (Paul-Ehrlich-Institut, Langen).

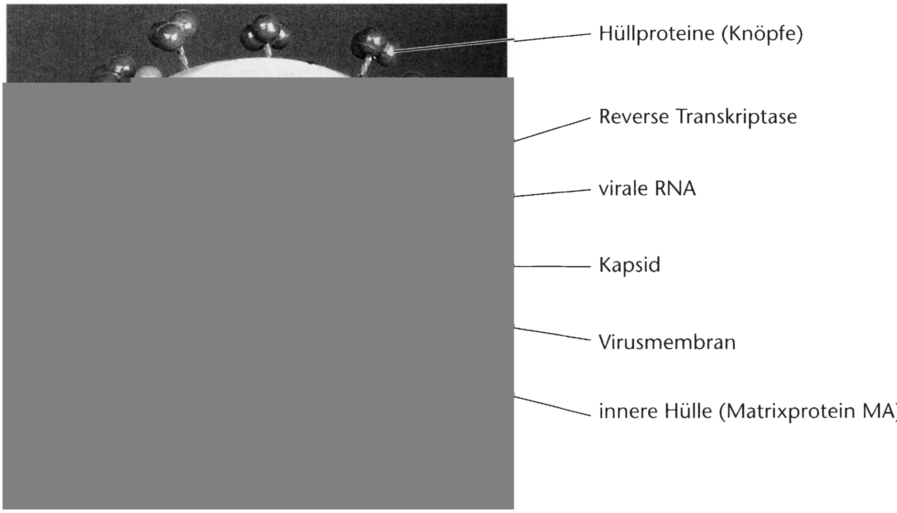


Abb. 11.10 Modell von HIV nach H. Gelderblom, Robert Koch-Institut, Berlin, und H. Zepter, Rödermark.

der Gag-Proteine beruht; dabei verdichtet sich das konische Kapsid („core"). Das Kapsid schließt das Genom ein, zwei identische RNA-Untereinheiten, die am 5´-Ende durch Wasserstoffbrückenbindungen assoziiert und mit dem Nukleokapsid-Protein komplexiert sind. Die Verpackung der viralen Hüllproteine beruht auf einem aktiven Mechanismus, bei dem der zytoplasmatische Schwanz des Hüllproteins mit dem Matrixprotein (MA) des Kapsids interagiert. In die Virushülle werden auch zelluläre Proteine wie z.B. HLA spezifisch eingebaut.

Genom

Das Genom der Retroviren (Abb. 11.11: HIV-1, s.a. Abb. 6.35) ist eine Einzelstrang-RNA, die mit Hilfe des viralen Enzyms **Reverse Transkriptase**



Abb. 11.11 Genomstruktur von HIV-1 und Prozessierung der Strukturproteine. LTR bezeichnet repetitive Sequenzen an den Enden des Provirus, die für die Virusvermehrung und Integration in die zelluläre DNA notwendig sind. Die Gag-Pol-Proteine werden von der viralen Protease, die Env-Proteine von einer zellulären Protease geschnitten. Die Regulatorproteine Tat, Nef, Rev, Vpr und Vpu werden nicht prozessiert. M: Myristylierung.

(RT) in eine Doppelstrang-DNA-Kopie umgeschrieben wird. Die RT ist das namengebende Enzym der Retroviren. Die cDNA wird dann mit Hilfe des viralen Enzyms **Integrase** in die genomische DNA der infizierten Zelle eingebaut. Die integrierte virale Sequenz wird als **Provirus** bezeichnet. An beiden Enden des proviralen Genoms befinden sich sogenannte long terminal repeats (LTR), die aus U3-, R- und U5-Elementen aufgebaut sind. In den LTR befinden sich Sequenzen, die für die Transkription wichtig sind, wie Promotor, Enhancer und das PolyA-Signal. Die Hauptstrukturproteine des Kapsids werden vom *gag* (gruppenspezisches Antigen)-Gen kodiert, das am 5´-Ende des viralen Genoms lokalisiert ist (Tab. 11.21). Die zur proteolytischen Spaltung der Gag-Vorläuferproteine benötigte Protease, die RT, das Enzym Ribonuklease H und die Integrase werden vom *pol* (Polymerase)-Gen kodiert. Das am 3´-Ende gelegene *env* (envelope)-Gen kodiert die Hüllproteine. Bei allen Retroviren treten zwei Hüllproteine auf, das transmembrane (TM) und das Oberflächen-(surface, SU) Hüllprotein. Bei den Typ C-Retroviren beträgt deren Größe 15 und 70 kD, letzteres ist ein Glykoprotein (gp). Bei HIV-1 handelt es sich um zwei Glykoproteine, gp41 und gp120, bei HIV-2 um gp36 und gp120. Auch die Hüllproteine haben ein gemeinsames Vorläuferprotein, das durch eine zelluläre Protease gespalten wird. Die Genomstruktur der Lentiviren ist weitaus komplexer als die der Typ C- und Typ D-Retroviren (s. Abb. 6.35). Neben den Genen für die bereits erwähnten Gag-, Pol- und Env-Proteine, die bei allen Retroviren gebildet werden, gibt es bei HIV-1 und HIV-2 noch andere, sogenannte regulatorische oder akzessorische Gene (s. Tab.11.21). Bei beiden Viren wird das *tat* (transactivating)-Gen aus 2 Exons bestehend gefunden (s. Abb. 11.11). Das 14 kD große Tat-Protein bindet an das Tat-responsive element in der LTR der viralen RNA. Das *rev* (regulator of expres-

Tab. 11.21 Proteine von HIV-1 und HIV-2 und ihre Funktionen

Protein	Größe (kD)	Funktion
Gag (gruppenspezifisches Antigen)	p24 p17 p6 p7	CA Kapsidprotein MA Matrixprotein, myristyliert Funktion beim Abknospen NC Nukleokapsidprotein
Pol (Polymerase)	p66, p51	Reverse Transkriptase (RT), RNAse H
PR (Protease)	p10	proteolytische Spaltung der Gag-Proteine
IN (Integrase)	p32	Integration der cDNA
Env (Hülle)	gp120 gp41 (gp36[1)])	Oberflächenhüllprotein (SU) Transmembranes Hüllprotein (TM)
Tat (Transaktivierender Faktor)	p14	Transaktivator
Rev (regulator of expression of virion proteins)	p19	Regulation der viralen mRNA-Expression
Nef (negative factor)	p27	pleiotrope Wirkungen, erhöhte Virusreplikation, Down-Regulierung von CD4
Vif (virion infectivity factor)	p23	Reifung der Virionen, Reverse Transkription
Vpr (virales protein R)	p15	Virusreplikation
Vpu[2)] (virales Protein U)	p16	Virusfreisetzung, verhindert gp160-CD4-Komplexe
Vpx[3)] (virales Protein X)	p15	Replikation in PBMC

[1)] HIV-2, [2)] nur HIV-1, [3)] nur HIV-2, SIV

sion of virion proteins)-Gen kodiert für ein Protein, das an eine Sequenz im *env*-Gen, die RRE (rev responsive element) bindet und den Übergang von ungespleißter mRNA vom Zellkern in das Zytoplasma ermöglicht. Das Genprodukt des *nef* (negative factor)-Gens interagiert mit verschiedenen zellulären Proteinen. *Vif, vpr* und *vpu/vpx* kodieren weitere Faktoren, die die Replikation der Viren regulieren. *Vpr* und *vpu/vpx* sind für die Pathogenität der Viren nicht von Bedeutung. Auch Viren mit *nef*-Deletionen sind, wenn auch mit Verzögerung, pathogen.

Genotypen

Sequenzielle HIV-1 Isolate aus einem Patienten, vor allem aber Isolate verschiedener geographischer Herkunft weisen deutliche Unterschiede in der Sequenz auf. Dies erklärt sich einerseits dadurch, daß das Virus selbst sich verändert und andererseits dadurch, daß es nachgewiesenermaßen in der Evolution zu mehrfachen, unabhängigen Übertragungen von SIV-Subtypen von Primaten auf den Menschen kam. Die größten Unterschiede wurden im *env*-Gen und in den regulatorischen Genen (bis zu 40%) beobachtet. Für HIV-1 wurden 11 Subtypen („clades“) beschrieben, davon die Subtypen A bis J aus der Hauptgruppe M („main“) und eine weiter entfernte Gruppe O („outlier“). Auch Rekombinationen zwischen den Subtypen wurden beschrieben. Viren vom Subtyp A findet man vorwiegend in Zentralafrika, vom Subtyp B in Nordamerika und Europa, vom Subtyp C in Südafrika und Indien und vom Subtyp E in Thailand.

Vermehrungszyklus und Rezeptoren

Die Infektion einer Zielzelle beginnt mit der Bindung der viralen Hüllproteine an spezifische Rezeptoren auf der Zelloberfläche (Tab. 11.22 und Abb. 6.35). Der Mechanismus der Infektion ist noch nicht vollends aufgeklärt. HIV-1 und HIV-2 infizieren vorwiegend CD4-positive Lymphozyten und Makrophagen. Nach der Bindung von gp120 an CD4 erfolgt eine Bindung von gp120 an den entsprechenden Ko-Rezeptor. Im Ausnahmefall können auch CD4-negative Zellen infiziert werden, z.B. Zellen des Gehirn. Als Rezeptoren können das Glykolipid Galaktosylceramid (galC), der Fc-Rezeptor und der Komplementrezeptor dienen. Als Ko-Rezeptoren dienen Chemokinrezeptoren, das sind Zelloberflächenproteine mit 7 Membrandurchgängen, die intrazellulär an ein G-Protein gekoppelt sind (Tab. 11.23). Die natürlichen Liganden der Ko-Rezeptoren, die Chemokine, wirken chemotaktisch auf Lymphozyten und andere Zellen. Man unterteilt sie in CXC-Chemokine wie SDF-1 (stromal cell derived factor-1) und in CC-Chemokine wie RANTES (regulated upon activation, normal T cells expressed and secreted)

Tab. 11.22 Vermehrungszyklus von HIV

1. Anheften von gp120 an CD4 oder selten an einen alternativen Rezeptor
2. Konformationsveränderungen im gp120
3. Binden der V3-Region an den Chemokin-Ko-Rezeptor
4. Erneute Konformationsänderungen im gp120, Freisetzen von kryptischen Epitopen im gp41
5. Rezeptor-vermittelte Endozytose, spätere oder unmittelbare Fusion der Virus-Membran mit der Zellmembran mittels des Fusionspeptids von gp41
6. Eintritt der viralen RNA mit Kapsid ins Zytoplasma
7. Reverse Transkription, Transport in den Nukleus und Integration in die zelluläre DNA
8. Produktion viraler mRNA und genomischer RNA ausgehend von der integrierten proviralen DNA
9. Produktion viraler Proteine
10. Transport der viralen Kapsid- und Hüll-Proteine an die Zellmembran, Kapsidformierung, Inkorporation der viralen RNA, Abschnüren der Viruspartikel
11. Reifen der Partikel, proteolytische Spaltung der Vorläuferproteine, Kondensation des Kapsids

Tab. 11.23 Ko-Rezeptoren für HIV

Rezeptor	natürlicher Ligand	Tropismus
CXCR4 (Fusin)	SDF-1 (stromal-derived factor 1)	T-Zellen
CCR2	MCP-1	Makrophagen
CCR3	Eotaxin	Makrophagen
CCR5	RANTES, MIP-1α, MIP-1β	Makrophagen

und MIP-1 (monocyte chemotactic protein-1). Die Chemokinrezeptoren werden von Viren mit unterschiedlichem Tropismus benutzt. Danach erfolgt eine Fusion zwischen der Zellmembran und der Virusmembran, ein Prozeß, der mit der Penetration des am N-terminalen Ende des gp41-lokalisierten Fusionspeptids in die Zellmembran beginnt. Zuvor muß gp41 eine Fusions-kompetente Konformation annehmen, was mit hoher Wahrscheinlichkeit durch die Interaktion zweier Helices im Molekül erreicht wird. Die Tatsache, daß die Infektion ein pH-unabhängiger Prozeß ist, bedeutet nicht automatisch, daß die Fusion direkt auf der Zelloberfläche stattfindet; eine rezeptorvermittelte Endozytose ist nicht ausgeschlossen. Bei anderen Retroviren werden die zur Induktion der Fusion notwendigen Konformationsveränderungen durch eine Verringerung des pH erzielt.
Schon während der Internalisierung des Virus wird die virale RNA durch die RT mit Hilfe von tRNA-Molekülen, die als Primer fungieren, in ein RNA-DNA-Hybrid umgeschrieben. Die RNA des Hybrids wird durch die Ribonuklease H abgebaut und gleichzeitig wird das Molekül zum DNA-Doppelstrang komplettiert. Im Zellkern kommt es mit Hilfe der Integrase zum Einbau in die zelluläre DNA. Dabei kann es zu Zerstörung von zellulären Genfunktionen (Integrationsmutagenese) kommen. Chromosomal integrierte virale DNA wird wie zelluläre Gene bei Mitosen an die Tochterzellen weitergegeben. Daraus folgt eine Persistenz des Virus. Einmal infizierte Menschen sind deshalb solange Virusträger, solange infizierte Zellen existieren, auch wenn die viralen Gene nicht exprimiert werden und keine reifen Viruspartikel entstehen.

AIDS: Das Ergebnis einer Transspezies-Übertragung

Es konnte inzwischen klar gezeigt werden, daß HIV-1 und HIV-2 das Ergebnis einer Übertragung von Viren einer anderen Spezies auf den

z.B. FIV bei Hauskatzen und SIVsm nicht nur als HIV-2 beim Menschen, sondern auch als AIDS hervorrufendes SIVmac bei Makaken. Die Apathogenität im natürlichen Wirt ist das Resultat eines lang andauernden Adaptationsprozesses zwischen Virus und Wirtsorganismus. Die Kenntnis der Mechanismen, die dem zugrunde liegen, könnten hilfreich für zukünftige antivirale Therapien sein.

11.11.3 AIDS: Klinik

Die Übertragung der Immundefizienzviren erfolgt wie bei allen Retroviren nicht durch die Luft oder durch Aerosole, sondern immer ausschließlich durch Körperflüssigkeiten wie Sperma und Blut. Neben der sexuellen Übertragung und der durch kontaminiertes Blut oder Blutprodukte wurde noch die Übertragung von der Mutter auf das Kind, entweder durch die Plazenta oder durch die Muttermilch, beschrieben.
Im Verlauf der Infektion kommt es zu einer Verminderung der Zahl und einer Dysfunktion der $CD4^+$-Zellen, aber auch der naiven $CD8^+$-Zellen, was letztendlich zu einer generalisierten **Immunsuppression** führt. Klinisch ist die HIV-Infektion charakterisiert durch

1. eine kurze Inkubationsphase, in der noch keine Antikörper gegen HIV vorhanden sind
2. eine akute Erkrankung, die einem grippalen Infekt oder einer infektiösen Mononukleose ähnelt
3. eine asymptomatische Phase, in der der Infizierte gesund erscheint
4. das Lymphadenopathie-Syndrom (LAS) und
5. AIDS.

Gerade die letzte Phase ist durch das gehäufte Auftreten opportunistischer Infektionen charakterisiert, hinzu kommen Tumoren und neurologische Komplikationen wie Enzephalopathien. In der ersten Phase nach der Infektion kommt es zu einer transienten Virusvermehrung, die nach dem Auftreten der humoralen

$CD4^+$-Kategorie	$CD4^+$-Zellen/µl	$CD4^+$ in Prozent
1	> 500	> 29
2	200–499	14–28
3	< 200	< 14

Tab. 11.25 CDC-Klassifikation der HIV-Infektion: $CD4^+$-Kategorien

einer Risikogruppe (s. Epidemiologie, Kap. 11.11.6), mit der erforderlichen Behutsamkeit berücksichtigt werden.

Nachweis von Antikörpern

Der Nachweis von Antikörpern gilt als Beweis für die Infektion und eine entsprechende Vermehrung des Erregers. Die meisten der in der Bundesrepublik vom PAUL-EHRLICH-Institut zugelassenen kommerziellen Nachweistests beruhen auf dem **ELISA**-Prinzip. Dabei ist oftmals ein kombinierter Nachweis von Antikörpern gegen HIV-1 (M und O) und HIV-2 möglich. Der Test wird nach ca. 14 Tagen bis zu 3 Monaten nach der Infektion positiv. Bei erstmalig positivem Ergebnis eines Tests sollte eine Bestätigung mit einem anderen zugelassenen Test erfolgen. Dazu bietet sich der **Western Blot** (Immunoblot) an. In diesem Test werden Virusproteine elektrophoretisch aufgetrennt und dann auf ein Filter aufgetragen. Der Immunoblot erlaubt Aussagen darüber, gegen welche virale Proteine Antikörper auftreten. Ein falsch-negativer Befund kann im „Fenster" zwischen Infektion und erstem Auftreten der Antikörper erhoben werden. Um diese Fälle zu verhindern, die besonders im Blutspendewesen gravierende Folgen haben könnten, kann in dieser Phase ein Direktnachweis der Viren erfolgen (s.u.). Ein falsch-positiver Befund im ELISA kann auf kreuzreagierenden Antikörpern, vorwiegend gegen p24Gag, beruhen und durch den Immunoblot ausgeräumt werden. Früher wurden Tests auch mit Hilfe der Immunfluoreszenz oder der Radioimmunopräzipitation durchgeführt.

Virusnachweis

Der direkte Nachweis von HIV kann mit verschiedenen Methoden erfolgen. Der Nachweis von p24Gag im Plasma oder Serum mit Hilfe eines ELISA kann einerseits zur Bewertung der Kinetik der Virusbelastung, zum anderen zum Nachweis des Virus im diagnostischen Fenster (s.o.) genutzt werden. Da dieser Test nicht sehr sensitiv ist, wurde er inzwischen durch die **Polymerasekettenreaktion (PCR)** zum Nachweis viraler RNA verdrängt.

Für diesen Test wird zuerst RNA isoliert, dann wird die RNA mit Hilfe von sog. Random Primern und einer RT in eine DNA umgeschrieben, und abschließend wird mit virusspezifischen Primern eine PCR durchgeführt. Die amplifizierte DNA kann durch Ethidiumbromidfärbung im Agarosegel nachgewiesen werden, nötigenfalls kann die Spezifität durch Sequenzierung oder eine Southern-Blot-Hybridisierung überprüft werden.

Sowohl der p24Gag-Nachweis als auch die RT-PCR erlauben keine Aussage über die Integrität und Infektiosität der Viruspartikel. Diese Aussage wird nur durch eine Anzüchtung der Viren auf Mitogen-stimulierten Lymphozyten von gesunden Spendern und eine Bestimmung des Titers ermöglicht. Da dieser Test jedoch sehr teuer ist, kann er nicht zu Routinezwecken eingesetzt werden.
Der Nachweis von **Virus in Blutzellen** von Infizierten kann auch mit Hilfe der PCR erfolgen, dabei wird entweder integriertes Provirus (DNA-PCR) oder virale mRNA (RT-PCR) nachgewiesen.

11.11.5 AIDS: Pathogenese

Der Mechanismus, mit dem HIV-1 und HIV-2 eine Immundefizienz hervorrufen, ist noch unbekannt. Der Zusammenbruch des Immunsystems kann durch die Abnahme der Zahl der naiven $CD4^+$- und $CD8^+$-Lymphozyten und die Beeinträchtigung deren immunologischer Kompetenz, durch Veränderungen des Zytokinmusters und durch die Zerstörung der Strukturen der Lymphknoten beschrieben werden. Die Abnahme der Zahl der $CD4^+$-Zellen, die ohnehin nicht direkt mit der Progression zu AIDS korreliert, wurde lange Zeit mit einer direkten zytopathischen Wirkung des Virus erklärt. Da aber nur wenige Zellen infiziert sind, müssen indirekte Mechanismen wie Apoptose oder Abtötung durch zytotoxische T-Zellen angenommen werden. Auch eine Hemmung der Bildung aus

Vorläuferzellen ist nicht auszuschließen. Nach Beginn einer antiretroviralen Therapie wird ein Anstieg der $CD4^+$-Zellen im peripheren Blut beobachtet. Das bedeutet aber nicht zwingend, daß diese Zellen vor der Therapie abgetötet wurden, sondern ist eher Ausdruck der Rezirkulation aus lymphoiden Organen.
Außer HIV und SIV rufen auch Typ C- und Typ D-Retroviren Immundefizienzen hervor, die klinisch sehr ähnlich sind, also auch mit opportunistischen Infektionen, $CD4^+$-Zellverlusten und einer Zerstörung der Lymphknoten einhergehen. Es ist derzeit noch ungeklärt, ob alle Retroviren, die sich doch stark in ihrer Genomstruktur unterscheiden, mittels eines einheitlichen Mechanismus Immundefizienzen hervorrufen. Allerdings konnte für alle Retroviren gezeigt werden, daß ihr transmembranes Hüllprotein immunsuppressive Eigenschaften aufweist. In den transmembranen Hüllproteinen aller Retroviren einschließlich des gp41 von HIV-1 wurde eine hochkonservierte Domäne identifiziert. Ein von dieser Domäne abgeleitetes synthetisches Peptid wirkt immunsuppressiv für T- und B-

neutralisierend wirken können. HIV-spezifische zytotoxische T-Zellen (CTL) werden bereits kurz nach der Infektion nachgewiesen. Der Anstieg der Zahl der $CD8^+$-Zellen nach der Infektion ist nicht nur auf einen Anstieg der Zahl der $CD8^+$-CTL zurückzuführen, sondern auch auf $CD8^+$-Zellen, die einen antiviralen Faktor produzieren, der noch nicht genau definiert ist. Die Virusreplikation kann auch durch die natürlichen Liganden der Chemokinrezeptoren wie RANTES, MIP-1α und MIP-1β gehemmt werden (s. Tab. 11.23). Die verschiedenen Mechanismen der Viruskontrolle können gleichzeitig zu sogenannten *Escape-Mutanten* führen. Die hohe Vermehrungsrate des Virus und die Immunantwort führen zur Ablagerung von Virus-Antikörper-Komplexen in den Lymphknoten, vorwiegend an dendritischen Zellen, was wiederum zur Stimulierung des Immunsystems einerseits und zur Induktion der Immundefizienz durch virales gp41 andererseits beiträgt. Dabei werden stark replizierende T-Zell-trope Viren mit erweitertem Wirtszellspektrum selektiert.

11.11.7 Infektionen bei AIDS

HIV infiziert Zellen des menschlichen Immunsystems, vor allem $CD4^+$-Lymphozyten, Makrophagen, LANGERHANS-Zellen und follikuläre dendritische Zellen. Die $CD4^+$-Zellen spielen eine wichtige Rolle als Helferzellen bei der humoralen und zellulären Immunantwort, bei den $CD8^+$-Zellen handelt es sich vorwiegend um zytotoxische T-Zellen. Im Verlauf der Erkrankung kommt es zu einer Verminderung der Zahl und zu einer Dysfunktion der $CD4^+$-Zellen, aber auch naiver $CD8^+$-Zellen, was letztendlich zu einer generalisierten Immunsuppression führt.

terien wie das *Mycobacterium tuberculosis* auf. Noch bis 1988 war *Pneumocystis-carinii*-Pneumonie (PCP) bei nahezu 80% aller Patienten im Verlauf der HIV-Infektion diagnostizierbar und war damals Erstmanifestation für etwa die Hälfte aller Patienten. Mit der Kenntnis des Krankheitsbildes AIDS konnte durch prophylaktische Behandlung oder rechtzeitige gezielte Therapie der Infektionen ihr Auftreten verringert werden. Hinzu kommt, daß durch die neuen Kombinationstherapien gegen AIDS, die die Virusbelastung effektiv verringern und damit die virusbedingte Immunschwäche reduzieren, auch die Zahl der opportunistischen Infektionen ab-

11

11

Tab. 11.29 Gentherapie der HIV-Infektion

Ansatz	Strategie
1. Hemmer der Virusvermehrung	
RNA-Expression	
anti-sense RNA	Blockade der viralen RNA
(Angriffspunkte: gag, leader sequence, tat, rev, packaging sequence, tar)	
Ribozyme	Zerstörung der viralen RNA
(Angriffspunkte: gag, leader sequence, env, Integrase, vif, tat, rev)	
RNA-Köder	
▪ TAR, RRE	Blockade von Tat und Rev
▪ Verpackungssequenz	Blockade der Verpackung
▪ artifizielle Liganden	Blockade der Funktion
(Angriffspunkte: mRNA, die RT, Integrase, Rev oder Tat bindet)	
Protein-Expression	
▪ Toxine (Diphtherie-Toxin, Thymidinkinase des HSV)	Zelltod
▪ transdominante negative Proteine (Tat, Rev, Gag, Protease)	Blockade der Funktion
▪ Antikörper-Fragmente (Env, Tat, Rev, Reverse Transkriptase, Integrase)	Blockade der Funktion
▪ CD4	Blockade von Env
2. Hemmer der Virusinfektion	
▪ MIP-1α, RANTES	Blockade des CCR-5 Rezeptors

Aufgrund der vielfältigen Probleme mit der Chemotherapie werden derzeit zahlreiche Ansätze einer **somatischen Gentherapie** der HIV-Infektion entwickelt. Einige Ansätze befinden sich bereits in der klinischen Prüfung. Die meisten Ansätze beruhen auf der Eliminierung infizierter Zellen, der intrazellulären Hemmung der Virusproduktion, der intrazellulären Resistenz gegenüber einer Infektion oder der Verhinderung der Infektion (Tab. 11.29). Allerdings sind die meisten Ansätze vorerst nur *in vitro* wirksam, erste *in vivo* Versuche schlugen fehl. Hinzu kommt, daß z.B. die transdominanten Proteine vom Immunsystem als

lich bleibt, gilt ein Impfstoff als notwendige Voraussetzung für eine weltweite Bekämpfung der HIV-Epidemie. Obwohl nach der HIV-Infektion bei den Infizierten sowohl eine humorale als auch eine zelluläre Immunantwort beobachtet wird, ist diese nicht ausreichend, das Virus zu eliminieren. Alle klassischen Impfstoffansätze haben sich bisher im Tiermodell oder in direkten Studien am Menschen als nicht wirksam erwiesen. Dazu gehörten attenuierte Lebendimpf-

11

Tab. 11.30 Angeborene Immunschwächen und chromosomale Lokalisierung der defekten Gene

Störung der B-Lymphozyten	
X-chromosomale Agammaglobulinämie (XLA)	Xq22
Agammaglobulinämie	14q32
Kombinierte Immundefekte	
(Störung der **T- Lymphozyten** und möglicherweise auch der humoralem Immunantwort)	
Hyper-IgM Syndrom	Xq26
Autosomal rezessive SCID:	
Adenosindeaminase (ADA)	20q13.4
Rekombinase-aktivierende Gene (RAG1, RAG2)	11p13
Januskinase 3 (JAK3)	19p13.1
Zeta-Ketten-assoziiertes Protein (ZAP70)	2q12
Mutation der Purinnukleosidphosphorylase (PNP)	14q13.1
Defekte der HLA-Klassen I und II:	
Transporter-assoziiertes Protein 2 (TAP2)	6p21.3
Class II Transaktivator (CIITA)	16
Regulatory factor X5 (RFX5)	1
RFX assoziiertes Protein (RFXAP)	?
X-chromosomale SCID (XSCID)	Xq13.1
Interferon-γ Rezeptor 1 (IFNGR1)	6q23-24
CD3γ, ε	11q23
Komplexe Syndrome mit Immunschwäche	
Ataxia teleangiectasia (AT)	11q22-23
BLOOM-Syndrom (BS)	15q26.1
WISKOTT-ALDRICH-Syndrom (WAS)	Xp11.23
DIGEORGE-Syndrom	22q11

Hypo- oder Agammaglobulinämien sind durch fehlende reife B-Lymphozyten (Plasmazellen) und durch kaum nachweisbare Mengen von IgG, IgA und IgM im peripheren Blut charakterisiert. Drei Hauptformen sind bekannt: Bei der X-chromosomalen Agammaglobulämie (XLA, übrigens die erste – 1952 von BRUTON – beschriebene angeborene Immunschwäche) liegt eine Mutation des Gens der Bruton-Tyrosinkinase (btk) vor, das auf dem X-Chromosom

Ausnahme der Enteroviren und HIV-1 unter Kontrolle gehalten. Die dritte Form der Hypogammaglobulinämie, die selektive IgA-Defizienz, tritt ebenso wie die beiden anderen Erbkrankungen selten auf. Etwa 11 angeborene Immunschwächen kommen auf 1 Mio. Einwohner, 6 davon haben XLA.

Bei einer weiteren Immunschwäche, dem **Hyper-IgM-Syndrom,** handelt sich um einen X-chromosomal vererbten T-Zelldefekt, der zu

Tab. 11.31 Häufigste Infektionen bei angeborenen Immunschwächen

Ähnlich wie beim PNP-Mangel treten auch neurologische Störungen auf. ADA-Mutationen führen ebenfalls zur Hemmung der DNA-Synthese, die wiederum die Lymphozytenproliferation hemmt.

Beim **Wiskott-Aldrich-Syndrom** (WAS) werden B-, T-Zellen und Blutplättchen beeinträchtigt. Das defekte Gen ist auf dem X-Chromosom lokalisiert. Das Genprodukt, das WAS-Protein (WASP), bindet an Cdc42, ein GTP-bindendes Protein mit einer Funktion bei der Regulation des Zytoskeletts, aber auch an andere Proteine mit Funktionen bei der Entwicklung der Lymphozyten und Blutplättchen.

Bei Patienten mit **DiGeorge-Syndrom** entwickelt sich das Epithelgewebe des Thymus, das eine enorme Bedeutung für die Differenzierung der T-Zellen hat, nicht normal. In der Folge treten erhebliche Störungen der zellulären Immunantwort auf. Obwohl die B-Zellen sich normal entwickeln, ist auch die humorale Immunität aufgrund mangelnder Interaktion mit den dafür notwendigen T-Zellen gestört.

Die **Ataxia teleangiectasia** (A. teleangiectatica, AT) ist eine autosomal rezessive Erkrankung, die von B- und T-Zellabnormitäten begleitet ist. Die Gesamt-T-Zellzahl, die B-Zellzahl und die Zahl der $CD4^+$-Zellen ist vermindert, typisch für den humoralen Immundefekt ist der komplette Mangel an IgA.

Das **Bloom-Syndrom** (BS) ist eine seltene, autosomal rezessive Erkrankung, die vor allem durch Minderwuchs und eine erhöhte Tumorrate charakterisiert ist. Mutationen in dem für das BS verantwortlichen Gen auf Chromosom 15 führen zu einer gesteigerten Rekombinationsrate und Chromosomeninstabilität. Die mit BS verbundene Immunschwäche ist variabel, bei einigen Patienten wurden rekurrierende Infektionen beobachtet. Die Zahl der Lymphozyten im Blut ist normal, die Funktionalität von B- und T-Zellen ist verringert.

Für das Zustandekommen einer T-Zellantwort ist die **Präsentation des Antigens** von großer Wichtigkeit. Moleküle der HLA Klasse II präsentieren den $CD4^+$-Zellen entsprechende Peptide der Antigene. Diese Moleküle kommen auf den typischen Antigen-präsentierenden Zellen wie B-Lymphozyten und dendritische Zellen vor. Das Fehlen der **HLA II** auf diesen Zellen führt zu einer Immunschwäche, die autosomal rezessiv vererbt und *Syndrom der nackten Lymphozyten* (bare lymphocyte syndrome II, BLS II) genannt wird. Bei dieser Immunschwäche fällt sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunantwort aus. Dadurch treten Infektionen der Atemwege und chronische Diarrhöen auf, die durch Pilze, Bakterien, Viren und Protozoen verursacht werden. Der Betroffene stirbt vorwiegend an Infektionen durch Entero-, Adeno- oder Herpesviren. Ähnlich wie bei der HIV-1-Infektion ist die Zahl der $CD4^+$-Zellen vermindert, wogegen die Gesamt-T-Zellzahl normal bleibt. Die Antikörperproduktion, vor allem die der IgA und IgG2, ist vermindert. BLS II wird durch Störungen in der Funktion transaktivierender Faktoren ausgelöst, wodurch keine mRNA für HLA II gebildet wird. Bei einigen Patienten bindet der Transkriptionsfaktor RFX (regulatory factor X) nicht an die entsprechende Bindungstelle im Promotor, bei anderen bindet RFX normal, aber das Gen für einen weiteren beteiligten Transkriptionsfaktor, CIITA (Class II transactivator), ist mutiert. Bei anderen Patienten wurden Mutationen des RFX5 (regulatory factor X5) und des RFXAP (RFX associated protein) beschrieben, die auch an der Promotorbindung beteiligt sind.

Defekte der Expression der HLA I führen ebenfalls zu einer Immunschwäche, die auch autosomal rezessiv vererbt wird und die als BLS I bezeichnet wird. Bei den Betroffenen ist im Unterschied zu BLS II und zur HIV-1-Infektion die Zahl der $CD8^+$-Zellen im peripheren Blut reduziert, während die Zahl der $CD4^+$-Zellen der Norm entspricht. Die Expression von HLA II ist normal, die von HLA I ist deutlich reduziert. Betroffen ist aber nicht das Gen für HLA I, sondern der Transport seines Genproduktes zur Zelloberfläche. Der entsprechende Transporter, TAP2 (transporter associated with antigen processing), ist nicht in der Lage, entsprechende Peptide zur Anlagerung an HLA I in das endoplasmatische Retikulum zu pumpen. Die deshalb unbesetzten HLA I-Moleküle können nicht stabil auf der Zelloberfläche exprimiert werden, ihre Internalisierung und Degradierung sind die Folge.

Auch Störungen der **Signalübertragung** in den Lymphozyten und der Produktion oder Wirkung von **Zytokinen** können zu schweren Immunschwächen führen. Die Aktivierung der T-Zellen erfolgt durch Interaktion des HLA-Peptid-Komplexes auf den Antigen-präsentierenden Zellen mit dem T-Zell-Rezeptor (TCR) – **CD3**-Komplex. Im ersten Schritt der Signalübertragung phosphorylieren die Tyrosinkinasen lck und fyn die CD3-Ketten, dann wird das Zeta-Ketten-assoziierte Protein 70, **ZAP-70,** phosphoryliert. Patienten, denen die γ-Kette des CD3 fehlt, exprimieren nur wenig TCR und bilden deshalb eine schwache zelluläre Immunantwort aus. Dasselbe wurde beim Fehlen der ε-Kette beobachtet. Patienten, denen ZAP-70 fehlt, besitzen T-Zellen, die zwar normal reifen, aber nicht auf Signale reagieren. Bei der CD3-ε-Defizienz war die Zahl der $CD4^+$-Zellen im peripheren Blut verringert, bei der ZAP-70-Defizienz fehlen die $CD8^+$-Zellen völlig.

Interleukin-2 (IL-2) ist ein essentieller T-Zell-Wachstumsfaktor. Eine gestörte Transkription des IL-2-Gens führt zu einem kombinierten De-

fekt der zellulären und humoralen Immunität. Nicht nur die fehlende Produktion eines Zytokins, sondern auch Störungen im Rezeptor können zu Immunschwächen führen. Das γc-Gen ist eine Untereinheit gleich mehrerer Interleukin-Rezeptoren, und zwar von IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 und IL-15. Das Gen ist auf dem X-Chromosom lokalisiert, Defekte führen zur XSCID, die 30–40% aller SCID ausmacht. Die Störungen in den Signaltransduktionen führen zu einem Fehlen der T-Zellen bei normaler Zahl der B-Zellen, aber gestörter Antikörperantwort aufgrund des Fehlens der T-Helferzellen. **JAK-3** ist eine Tyrosinkinase, die an der Signaltransduktion aller oben genannten Interleukine beteiligt ist. Eine Störung von JAK-3 führt demzufolge zu Immunschwächen, die der XSCID gleichen, aber autosomal rezessiv vererbt werden. Ein Defekt in der Kette 1 des Rezeptors für das Interferon-γ, IFN-γR1, führt dazu, daß der Rezeptor nicht auf der Zelloberfläche exprimiert wird und dadurch keine wirksame Makrophagenreaktion nach einer Infektion mit Mykobakterien erfolgen kann. Viele der angeborenen Immunschwächen sind rezessiv und auf Mutationen in Genen des X-Chromosoms zurückzuführen (s. Tab. 11.30; Abb. 11.12). Defekte in rezessiven Genen führen nur dann zu Erkrankungen, wenn beide Chromosomen das defekte Gen tragen. Da Männer nur ein X-Chromosom besitzen, erkranken alle, die die X-gekoppelte Erkrankung erben, während Frauen aufgrund des zweiten nicht-defekten Gens meist gesund bleiben. Die häufigsten Infektionen bei angeborenen Immunschwächen sind in Tab. 11.31 zusammengefaßt.

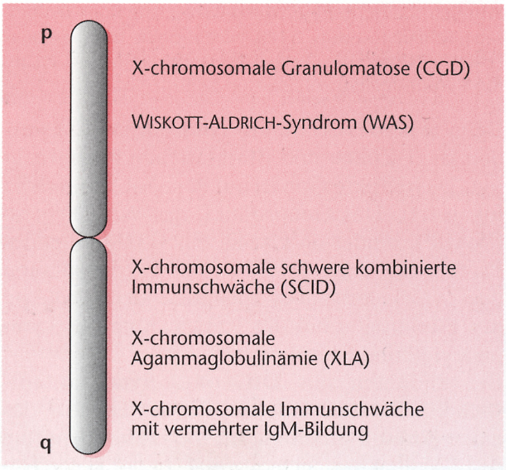


Abb. 11.12 Lokalisierung von Genen auf dem X-Chromosom, die mit angeborenen Immunschwächen assoziiert sind.

11.11.13 Angeborene Immunschwächen: Störungen der unspezifischen Abwehr

Antigen-unspezifische Abwehrmechanismen werden vorwiegend von Phagozyten, natürlichen Killerzellen und dem Komplementsystem getragen. Für alle Formen wurden Defekte beschrieben. Leukozytenintegrine sind notwendig für das Anheften der Phagozyten an die Wand der Blutgefäße, ihren Durchtritt durch diese Wand und die Aufnahme opsonisierter Bakterien. Defekte in den Integrinen führen zu mangelnder Migration der Phagozyten an den Infektionsort und zu ausgedehnten Infektionen. Bei

Tab. 11.33 Defekte bei phagozytischen Zellen

Defekt/Syndrom	Charakterisierung	Infektionen
Leukozytenadhäsionsdefizienz (LAD)	Defekt der β_2-Untereinheit CD18 der Leukozytenintegrine	Infektionen mit eitererregenden Bakterien
chronische Granulomatose (CGD)	Defekt der Bildung von Superoxidradikalen	intra- und extrazelluläre Infektionen, Granulome
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Mangel	Defekt des NADPH-Oxidase-Systems, Störung des oxidativen Metabolismus	chronische Infektionen
Myeloperoxidase-Mangel	gestörtes Abtöten intrazellulärer Erreger	chronische Infektionen
CHEDIAK-HIGASHI-Syndrom	Lysosomen fusionieren nicht korrekt mit Phagosomen	intra- und extrazelluläre Infektionen, Granulome

Tab. 11.34 Defekte des Komplementsystems

Komplement-Komponente	Störungen bei Mangel
C1, C2, C4	pathologische Anhäufung von Immunkomplexen
Faktor D, Faktor P	Infektionen mit Bakterien
C3	Infektionen mit eiter-erregenden Bakterien
C5–C9	Infektionen mit *Neisseria* spp.

der **Leukozytenadhäsionsdefizienz** (LAD) ist die β-Kette des Komplementrezeptors 3 (CR3) defekt. Die meisten Funktionsstörungen der Phagozyten beruhen jedoch auf einer Unfähigkeit, die aufgenommenen Bakterien zu zerstören (Tab. 11.33). Bei der **progressiven septischen Granulomatose** (chronic granulomatous disease, CGD) überleben die Mikroorganismen, weil die Phagozyten keine Sauerstoffradikale und kein Wasserstoffperoxid bilden. Bei der X-chromosomalen Form der CGD liegt ein Defekt der schweren Kette des an der NADPH-Oxidasereaktion beteiligten Zytochroms b558 vor, bei autosomal rezessiven Formen sind Defekte der auf Chromosom 16 kodierten leichten Kette des Zytochroms b558 oder der phagozytären Oxidasen p47phox und p67phox nachweisbar. Defekte innerhalb des klassischen Weges der **Komplementaktivierung** und bei **C3** sind mit eiterbildenden Infektionen verbunden, was auf die wichtige Rolle der Opsonine bei der Phagozytose der Bakterien hinweist. Defekte in den membranangreifenden Komponenten führen ausschließlich zu einer Anfälligkeit gegenüber *Neisseria* spp. (Tab. 11.34). Das Spektrum der Infektionen bei Fehlern im Komplementsystem deckt sich im wesentlichen mit dem von Patienten mit fehlerhafter Antikörperproduktion.

11.11.14 Immunschwächen und endogene Retroviren

Humane endogene Retroviren (HERV) sind im Genom des Menschen aufgrund einer vor Millionen Jahren stattgefundenen Infektion der Keimbahnzellen verankert und werden wie normale Gene vererbt. Nur wenige HERV werden in normalen Geweben exprimiert, ihre Funktion ist kaum untersucht. Bei HIV-1-negativen Personen mit Immunschwächen und verringerten $CD4^+$-Zellzahlen wurden Retroviren ausgemacht, deren exogene oder endogene Herkunft und Bedeutung jedoch noch unbekannt sind. Da verschiedene exogene Retroviren wie HIV-1, die animalen Leukämieviren und das humane T-Zell-Leukämievirus HTLV-1 Immunschwächen hervorrufen, ist es nicht ausgeschlossen, daß auch die Expression von Proteinen der HERV zu einer Immunschwäche beitragen kann.

Tiermodelle und therapeutische Ansätze bei angeborenen Immunschwächen

Zusätzliche Informationen über die Pathogenesemechanismen konnten mittels verschiedener Mausmodelle gewonnen werden. SCID-Mäuse sind durch eine Mutation einer DNA-abhängigen Proteinkinase charakterisiert, die die Differenzierung von B- und T-Lymphozyten verhindert. Mäuse, denen das IL-2-Gen fehlt, sind ähnlich wie Patienten mit einem Defekt im IL-2-Gen anfällig gegenüber verschiedenen Erregern. Knockout-Mäuse für Gene verschiedener Zytokine oder Zytokinrezeptoren erweitern die Kenntnisse über die Funktion der einzelnen Moleküle. Mäuse, die Interferon-γ oder den entsprechenden Rezeptor nicht exprimieren, sterben an Infektionen, ausgelöst durch intrazelluläre Erreger wie *M. tuberculosis*. Analog dazu sind Kinder, die für einen Defekt im IFN-γ-Rezeptor homozygot sind, besonders anfällig für Infektionen mit Mykobakterien.

Zur Behandlung der SCID werden Knochenmarkstransplantationen vorgenommen, um die fehlende zelluläre Komponente einzuführen. Für die angeborenen Immunschwächen sind Gentherapien denkbar, die jeweiligen Gendefekte könnten durch Einführung funktionsfähiger Genkopien behoben werden.

Literatur

Brodt, H.-R., E. B. Helm und B. S. Kamps: AIDS 1998. Diagnostik und Therapie. Steinhäuser, Wuppertal 1998.

Denner, J.: Immunosuppression by retroviruses: Implications for xenotransplantation. Ann. N. Y. Acad. Sci., **862** (1998) 75–86.

Gelderblom, H. R., M. Gentile, A. Scheidler, M. Özel und G. Pauli: Zur Struktur und Funktion bei HIV: Gesichertes, neue Felder und offene Fragen. AIDS-Forschung, Heft 5 (1993) 231–242.

Levy, J. A.: HIV and the pathogenesis of AIDS. 2nd ed., ASM Press, Washington, 1998.

Löwer, R., J. Löwer, and R. Kurth: The viruses in all of us: characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **93** (1996) 5177–5184.

Schwarz, K., S. D. Fugman, U. Pannicke und C. R Bartram: Angeborene Immundefekte. In: Ganten, D. und K. Ruckpaul (Hrsg.): Handbuch der Molekularen Medizin. Band 4, Springer, Berlin–Heidelberg 1998.

11

vitro-Untersuchungen zur bakteriellen Adhäsion an Polymere der Schluß ziehen, daß sich Mikroorganismen mit niedriger Oberflächenenergie bevorzugt an Oberflächen mit ebenfalls niedriger Oberflächenenergie heften und umgekehrt. Kommt das Implantat in vivo in Kontakt mit Körperflüssigkeit, erfolgt in hoher Geschwindigkeit die Adsorption von körpereigenen Proteinen und anderen Blut- und Gewebsbestandteilen. Diese zumeist einschichtige Proteinhülle ist nun unmittelbar für die Adhäsi-

nen sind für den charakteristischen **Tropismus** bakterieller Infektionen verantwortlich. Es gibt allgemein Unterschiede zwischen den Materialklassen bezüglich ihrer Affinität zu Bakterien. Diese Unterschiede sind jedoch nur gradueller Natur, ein Material mit antiadhäsiven Eigenschaften gibt es nach dem Stand der Technik nicht. Die bakterielle Adhäsion ist ein äußerst komplexer Vorgang, in dem die spezifischen Eigenschaften der Bakterienzelle, die Polymeroberfläche, evtl. der umgebende Biofilm, das

11

wenig Alternativen zum Katheter haben, ist nach einem intermittierenden Katheterwechsel die systemische Antibiotikatherapie nach Antibiogramm mit allen ihren Nachteilen immer noch Mittel der Wahl bei kathetervermittelten Harnwegsinfekten.

Infektionen von allogenen Gefäßprothesen

Die höchste bisher nachgewiesene Infektionsrate arterieller Prothesen bei femoro-distalen Rekonstruktionen betrug 13,5%; im Durchschnitt sind es 1–3%. Häufig werden diese Rekonstruktionen unter kritischen Begleitumständen wie Ischämie, Ulzerationen, Gangrän in Assoziation mit Lymphangitis oder Lymphadenitis unternommen. Hämatome, welche prä- oder postoperativ induziert werden, oder auch Lymphozelen erhöhen das Risiko einer Implantatinfektion. Das Keimspektrum ist insgesamt dem der Katheterinfektionen sehr ähnlich. Bei 60% aller „late-graft-Infektionen“ (nachgewiesene Infektionen 100 Tage nach Implantation) können Koagulase-negative Staphylokokken isoliert werden. Ähnlich wie bei Katheterinfektionen führt die bakterielle Besiedelung der Haut von Krankenhauspersonal und Patienten über die Verletzung der Operationshandschuhe durch versehentliche Punktion während der chirurgischen Prozedur zur Kontamination der Implantate. In frühen postoperativen Phasen kann es zusätzlich durch Kathetermanipulationen, durch Manipulationen an nasogastralen Tuben, endotrachealen Tuben oder auch FOLEY-Kathetern zu transienten Bakteriämien kommen, welche zu einer Prothesenbesiedelung führen. Die Protheseninfektion ist für den Patienten eine sehr ernste Komplikation, da die Prothese explantiert und eine arterielle Umleitung aus einem Fremdkörpermaterial geschaffen werden muß. Erst nach einer aufwendigen antibiotischen Sanierung kann eine neue Prothese eingesetzt werden. Ähnliches gilt für infizierte Herzklappen (Inzidenz 0,5–2%) und Herzschrittmacherelektroden (Inzidenz 0,8–3%).

Infektionen nach Osteosynthesen und Totalendoprothesen

Die biomaterialassoziierte Infektion ist die schwerwiegendste Komplikation in der modernen Endoprothetik und bedingt eine signifikante Erhöhung der Morbidität orthopädischer Patienten. Über die nach der Revisionsoperation verbleibenden Resektionsarthroplastiken hinaus kann bei einer nicht-beherrschbaren Infektion die Amputation, Osteomyelitis, Sepsis und der Tod stehen. Die Infektionsrate für das künstliche Hüftgelenk beträgt 0,5%, für das künstliche Knie 2–4% und für das Ellenbogengelenk 5–7% (GRISTINA et al. 1993, MARTONE et al. 1992, SCHIERHOLZ et al. 1998a).

11.12.6 Hygienisches Management und perioperative Prophylaxe bei Fremdkörper-Implantationen

Die heute üblichen Methoden zur Prävention von Fremdkörperinfektionen umfassen vorwiegend hygienische Maßnahmen. Werden beim Implantieren von Fremdmaterialien und bei der Pflege invasiver Zugänge sämtliche aseptischen Techniken strikt eingehalten, sinkt auch die Häufigkeit z.B. von katheterinduzierten Infektion signifikant; wird solch ein personalintensives Vorgehen aus Kostengründen reduziert, steigt die Infektionsrate. Andere präventive Maßnahmen wie das Anlegen eines subkutanen Cuffs, transparentes Dressing, lokale Applikation von Mupirocin und der regelmäßige Katheterwechsel nach drei Tagen werden durchaus kontrovers diskutiert und führten bisher bei invasiven Zugängen nicht zu den gewünschten Effekten.

Im Rahmen der perioperativen Prophylaxe wird empfohlen, bei Kunstlinsenimplantation subkonjunktival Gentamicin zu geben, bei der Implantation von Herzklappen, Gefäßprothesen, Gelenkersatzmaterialien und urologischen Prothesen hingegen sollten Cephalosporine der zweiten Generation verabreicht werden.

11.12.7 Prävention von Fremdkörperinfektionen durch Modifizierung von Biomaterialien

Neben dem Bemühen, Fremdkörperinfektionen durch hygienische Maßnahmen oder perioperative Prophylaxe zu verhindern, hat man schon vor einiger Zeit begonnen, Materialien mit antimikrobiellen Eigenschaften zu entwickeln. Dabei wurden die Polymere entweder mit einer antimikrobiellen Substanz versehen, oder aber es wurde versucht, Polymere mit antimikrobiell



Abb. 11.14 Antimikrobielle Modifikationen zur Verhinderung von Fremdkörperinfektionen (aus: SCHIERHOLZ et al. 1998a); A = Antibiotikum; TDMAC = Tridodecylammoniumchlorid.

wirksamen funktionellen Gruppen herzustellen. Am bekanntesten ist das zur Behandlung der chronischen Osteomyelitis und von Weichteilinfektionen entwickelte Polymethyl-methacrylat-Gentamicin-(Septopal®)-System. Polymethylmethacrylat fungiert als Träger für das Gentamicin; durch eine kontrollierte Freisetzung kommt es zu einer relativ hohen lokalen Antibiotikum(a)-konzentration bei geringen systemischen Konzentrationen. Die Abb. 11.14 zeigt die Strategien zur antimikrobiellen Modifikation von Implantatmaterialien.

Die aktuelle Forschung konzentriert sich momentan auf die Entwicklung von sogenannten Slow-release-Systemen mit der kontinuierlichen Freisetzung von Antiseptika, Antibiotika oder Schwermetallionen aus beschichteten Implantatmaterialien. Es wird noch einige Zeit dauern, bis eine endgültige klinische Bewertung solcher Produkte ausreichend ist.

Literatur

GRISTINA, A. G, G. GIRIDHAR, B. L. GABRIEL, P. T. NAYLOR, and Q. N. MYRVIK: Cell biology and molecular mechanisms in artificial device infections. Int. J. Artif. Organs 16 (1993) 755–763.

MARTONE, W. J., W. R. JARVIS, D. H. CULVER, and R. W. HALEY: Incidence and nature of endemic and epidemic nosocomial infections. In: J. V. BENNETT and P. S. BRACHMANN (Eds.) Hospital Infections. 1992: 577–592.

SCHIERHOLZ, J. M., A. F. E. RUMP, G. PULVERER, and J. BEUTH. Antiinfective catheters: Novel strategies to prevent nosocomial infections in oncology. Anticancer Res. 18 (1998a) 3629–3638.

SCHIERHOLZ, J. M., A. F. E. RUMP und G. PULVERER: Kathetermaterialien:Schwierige Suche nach neuen Werkstoffen, Deutsches Ärzteblatt 95 (1998b), A1007–1009.

11.13 Onkogenese durch Mikroorganismen

HERBERT PFISTER

Bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde experimentell gezeigt, daß bestimmte Virusinfektionen zu Tumoren führen können. In einigen Fällen entwickelten sich tastbare Tumoren, reproduzierbar wenige Wochen nach Infektion, so daß die ätiologische Rolle des jeweiligen Erregers unumstritten war. 1907 gelang CIUFFO die Übertragung von Hautwarzen des Menschen durch zellfreie Tumorextrakte. Kurz darauf beschrieben ELLERMANN und BANG die zellfreie Übertragung der Myeloblastose des Huhns und 1911 konnte ROUS ein Hühnersarkom und damit erstmals einen malignen, soliden Tumor durch zellfreie Filtrate übertragen. In den 30er Jahren wurde gezeigt, daß Infektionen mit Papillomviren und Retroviren zu Karzinomen führen können. Später ließen sich onkogene Vertreter noch in allen Virusfamilien mit DNA als genetischer Information identifizieren.

Das BURKITT-Lymphom, das bei Kindern in Afrika en-

demisch auftritt, war das erste menschliche Malignom, das mit einer Virusinfektion in Verbindung gebracht wurde. In Zellkulturen, die von BURKITT-Lymphomen etabliert wurden, konnten EPSTEIN und Mitarbeiter

Eine virusinduzierte Zelltransformation ist grundsätzlich dann möglich, wenn die infizierte Zelle durch die Virusreplikation nicht zerstört wird.

Tab. 11.35 Ausgewählte Beispiele retroviraler Onkogene und ihnen entsprechender zellulärer Proto-Onkogene

	virales Onkogen		Proto-Onkogen	
Onkogen	**Prototyp-Virus**	**Tumorform**	**zelluläre Lokalisation**	**Funktion**
sis	Affensarkomvirus	Sarkom	extrazellulär	B-Kette des Plättchen-Wachstumsfaktors (PDGF)
erb B	Aviäres Erythro-blastose-Virus	Erythroblastose und Sarkom	Transmembran-protein	Rezeptor für epidermalen Wachstumsfaktor (EGF)
src	Rous-Sarkomvirus	Sarkom	Plasmamembran	Tyrosin-spezifische Protein-kinase
abl	Abelson-Mäuse-leukämievirus	Prä-B-Zell-Leukämie	Plasmamembran	Tyrosin-spezifische Protein-kinase
H-ras	Harvey-Mäuse-sarkomvirus	Sarkom	Plasmamembran	GTP-bindende GTPase
K-ras	Kirsten-Mäuse-sarkomvirus	Sarkom	Plasmamembran	GTP-bindende GTPase
raf	3611-Mäuse-sarkomvirus	Sarkom	Cytoplasma	Serin/Threonin-spezifische Proteinkinase
crk	CT10 Aviäres Sarkomvirus	Sarkom	Cytoplasma	Adaptor für Tyrosinkinasen
erb A	Aviäres Erythro-blastosevirus	Erythroblastose	Kern	Thyroxin-Rezeptor
myc	MC29 Aviäres Myelocytomvirus	Myelocytom, Karzinom	Kern	Transkriptionsfaktor
fos	FBJ-Mäuse Osteosarkomvirus	Osteosarkom	Kern	Transkriptionsfaktor AP1
jun	Aviäres Sarkomvirus 17	Sarkom	Kern	Transkriptionsfaktor AP1

physiologisch notwendigen Signalübertragungskette, die extrazelluläre Wachstumsstimuli in den Zellkern weiterleitet und dort Transkription und Replikation aktiviert.
Über die Aktivierung von Protoonkogenen können auch solche Retroviren in Tieren onkogen wirken, die keine eigenen, in der Evolution akquirierten Onkogene besitzen. Solche Viren integrieren z.B. im Laufe einer lebenslangen Virämie rein statistisch in der Nähe zellulärer Protoonkogene. Unter dem Einfluß viraler Transkriptionskontrollelemente kommt es dann zu einer bis zu 100fach gesteigerten Protoonkogen-Expression und zu einer Transformation der betroffenen Zelle.
Diese Befunde waren für das Verständnis der Onkogenese außerordentlich bedeutsam. Bei der Entstehung menschlicher Krebserkrankungen scheint die direkte Übertragung von Protoonkogenen durch Retroviren jedoch keine Bedeutung zu haben. Eine onkogene Aktivierung von Protoonkogenen durch Genamplifikation (erbB beim Glioblastom), Chromosomentranslokation (abl bei der chronisch myeloischen Leukämie, myc beim Burkitt-Lymphom) oder Punktmutation (K-ras bei Kolon-, Lungen-, und Pankreas-Karzinom sowie H-ras beim Blasenkarzinom) spielt allerdings auch bei menschlichen Tumorerkrankungen eine wichtige Rolle.

Transformation durch DNA-Viren

Die Onkogene der DNA-Tumorviren sind im Gegensatz zu den Retroviren authentische vira-

le Gene, die für die Virusvermehrung notwendig sind. Aufgrund begrenzter genetischer Information sind die meisten DNA-Viren auf Enzyme der Wirtszelle angewiesen, welche die Vermehrung des Virus unterstützen. Solche Enzyme sind in einer ruhenden Zelle jedoch nicht vorhanden. Die Viren haben daher Strategien entwickelt, um infizierte Zellen aus der

S-Phase verzögert, um zellulären Reparaturenzymen die Chance zu geben, die entstandenen Schäden zu beheben und eine fehlerfreie Replikation zu erlauben. Defekte der p53-Funktion bedingen daher stets eine genetische Instabilität der Zelle mit der Konsequenz weiterer Mutationen in Protoonkogenen oder Tumorsuppressorgenen. Eukaryonte Zellen reagieren auf über-



11.13.2 Identifizierung onkogener Infektionserreger beim Menschen

Die Suche nach erregerbedingten Krebserkrankungen des Menschen konzentrierte sich zunächst auf Tumoren, die geographisch gehäuft oder bevorzugt in Verbindung mit erhöhter sexueller Promiskuität auftreten. Ein weiterer wichtiger Hinweis auf die kausale Rolle eines Erregers ist eine erhöhte Tumorprävalenz bei immunsupprimierten Individuen. Im Gegensatz zu experimentellen Systemen ist die kausale Rolle des Erregers bei der natürlichen, *multifaktoriellen* Karzinogenese mit großen Zeitintervallen zwischen Infektion und Tumorentstehung (s.o.) und der zusätzlichen Exposition gegenüber chemischen und physikalischen Karzinogenen oft sehr schwer zu beweisen.

Erreger können zur Tumorentwicklung auf verschiedenen Stufen und über verschiedene Mechanismen beitragen. Aufgrund der Befunde zur Virus-induzierten Zelltransformation erwartet man, daß komplette oder partielle Genome eines Tumorvirus in Krebszellen persistieren und virusspezifische Transkripte sowie onkogene Proteine nachweisbar sind, falls virale Funktionen für die Aufrechterhaltung des malignen Phänotyps notwendig sind. Werden Zellen in Kultur mit einem in malignen Tumoren identifizierten Virus infiziert, so sollte dies zur Veränderung des Proliferations- und/oder Differenzierungsverhaltens führen. Die transformierten Zellen sollten bei Inokulation in die Nacktmaus tumorigen sein. Alternativ können Tumorviren durch Insertionsmutagenese zur Karzinogenese beitragen. Es ist dann zu fordern, daß virale

„onkogene" Integration ist typischerweise ein sehr seltenes Ereignis unter vielen statistischen Integrationen, auf das durch Tumorwachstum in vivo selektiert wird. Dieser Mechanismus kann durch in vitro Transformationsteste nicht nachvollzogen werden.

Das bovine Papillomvirus Typ 4 (BPV4) und das Ösophaguskarzinom des Rinds sind ein gut untersuchtes System, in dem das Virus eine transiente Rolle bei Zelltransformation in vitro und Tumorentstehung in vivo spielt, ohne zu persistieren. Bei einem solchen „Hit and Run" Mechanismus wirkt das Virus möglicherweise als Mutagen, z.B. über die Aktivität spezifischer viraler Proteine. Hier ist ein kürzlich veröffentlichter Bericht von besonderem Interesse, nach dem bei experimenteller Expression des Adenovirus-E1A-Onkogens in Zellen eine Chromosomentranslokation zu beobachten ist, die zur Synthese eines onkogenen Fusionsproteins führt (EWS/FLI 1), das aus Ewing-Sarkomen des Menschen bekannt ist. Ein „Hit and Run" Mechanismus wurde z.B. für das Herpes simplex Virus in Verbindung mit dem Zervixkarzinom des Menschen postuliert. Die Rolle des Erregers kann auch indirekt sein, wobei dann weder Tumorzellen noch die Ursprungszellen des Tumors je mit dem Erreger infiziert waren. Der Tumor entsteht vielmehr als Reaktion auf die Infektion anderer Zellen oder des umgebenden Gewebes. Bei verstärkter Zellproliferation zur Geweberegeneration nach infektionsbedingten Schäden können sich Mutationen in Protoonkogenen und Tumorsuppressorgenen anhäufen und, wie im Fall von chronischen Hepatitis B- oder Hepatitis C-Virusinfektionen der Leber vermutet, das Risiko der Krebsentstehung erhöhen; siehe aber

zierter Zellen kann zur Entstehung von Tumoren des blutbildenden Systems beitragen, wie für B-Zell-Leukämien des Menschen bei Infektionen mit dem T-Zell-spezifischen HTLV-1 diskutiert. In diesen Fällen ist die ätiologische Rolle des Erregers nur sehr schwer zu beweisen.

Angesichts der Vielzahl denkbarer Mechanismen der Karzinogenese und der begrenzten Aussagekraft experimenteller Systeme sind epidemiologische Untersuchungen beim Menschen letztlich essentiell, um das Risiko einer spezifischen Infek-

miert werden und die bei experimenteller Expression in vitro und/oder in transgenen Tieren Zellen transformieren bzw. Tumoren induzieren (s. Tab. 11.36). Die von diesen Genen kodierten Proteine **erhöhen die Proliferationsrate von Zellen** entweder durch Stimulation von Wachstumssignalen oder durch Ausschalten von Wachstumskontrollmechanismen **und/oder inhibieren die Apoptose.** Dadurch wird die Homöostase gestört, die im reifen Organismus aus den Nettoeffekten von Zellproliferation und Zelltod resultiert. Ausgewählte Beispiele für Eingriffe in zel-



Abb. 11.16 Grob schematische Darstellung ausgewählter Regulationsmechanismen der Zellproliferation und der Angriffspunkte viraler Onkoproteine (rot, siehe Tab. 11.36). Die Pfeile zeigen direkte oder indirekte, stimulierende (+) oder inhibierende (–) Effekte an. ras und raf: Proto-Onkoproteine (siehe Tab. 11.35). NFκB: Transkriptionsfaktor. p21 und p27: Inhibitoren Cyclin-abhängiger Kinasen.

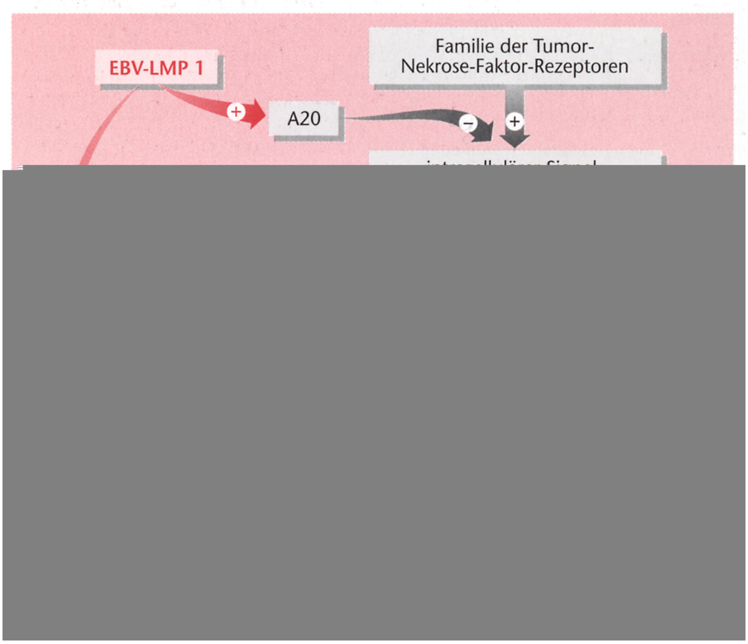


Abb. 11.17 Grob schematische Darstellung ausgewählter Regulationsmechanismen des programmierten Zelltods (Apoptose) und der Angriffspunkte viraler Onkoproteine (rot, siehe Tab. 11.36). Die Pfeile stehen für direkte oder indirekte, stimulierende (+) oder inhibierende (–) Effekte. bcl 2: Proto-Onkoprotein, Inhibitor der Apoptose. bax: Mitglied der bcl2-Protein-Familie, bildet Homodimere und Heterodimere mit bcl2. Die Bereitschaft einer Zelle zur Apoptose hängt vom bax/bcl2-Verhältnis ab. **FLICE:** **F**as-associated death domain protein (FADD)-**l**ike-**i**nterleukin-1β **c**onverting **e**nzyme. Fas ist Mitglied der Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptor-Familie. A20: zelluläres Protein mit anti-apoptotischer Aktivität.

11.13.4 Perspektiven für Tumorfrüherkennung, Verhütung und Therapie

Mikrobiologische Diagnostik

Angesichts der Rolle von Erregern bei menschlichen Krebserkrankungen stellt sich die Frage,

ferieren (z.B. mit der Komplexbildung mit zellulären Proteinen). Bisher existieren noch keine erfolgversprechenden Ansätze dieser Art.

Prophylaktische und therapeutische Impfstoffe

Immunsystem nicht mehr möglich ist, fremde Antigene auf Tumorzellen zu erkennen. Vielversprechender wäre ein immuntherapeutischer Angriff bereits auf prämaligne Veränderungen.

Literatur

BRECHOT, CH.: Molecular Mechanisms of Hepatitis B and C Viruses Related to Liver Carcinogenesis. Hepato-Gastroenterology **45** (1998) 1189–1196.

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. IARC, Lyon: Vol. 59: Hepatitis Viruses (1994); Vol. 61: Schistosomes, Liver Flukes and Helicobacter pylori (1994); Vol. 64: Human Papillomaviruses (1995); Vol. 67: Human Immunodeficiency Viruses and Human T-Cell Lymphotropic Viruses (1996); Vol. 70: Epstein-Barr Virus and Kaposi's Sarcoma Herpesvirus/Human Herpesvirus 8 (1997).

NYREN, O.: Is Helicobacter pylori Really the Cause of Gastric Cancer? Seminars in Cancer Biology **8** (1998) 275–283.

WEISS, R. A. and C. BOSHOFF (eds.): HHV8/KSHV. Seminars in Cancer Biology **9** (1999) 149–239.

12

Prinzipien bei aktiven und passiven Immunisierungen

Detlef Michel, Thomas Mertens

12.1 Einführung, Begriffserklärungen, Prinzipien

Verbesserung der Lebensumstände und Hygiene der Menschen, Impfungen und Antibiotika haben in unterschiedlicher Weise zum Kampf gegen Infektionserreger beigetragen. Während Antibiotikatherapie vor allem die **Letalität** beeinflußt und über diese natürlich auch die **Mortalität,** senken die prophylaktischen Maßnahmen (Hygiene, Impfungen) primär die **Inzidenz** und auf diesem Wege die Mortalität.

Für die Seuchenbekämpfung oder gar Ausrottung einer Infektionskrankheit sind prophylaktische Maßnahmen entscheidend.

Ersten Versuchen einer aktiven Immunisierung ging die Beobachtung voraus, daß das Überstehen einer übertragbaren Krankheit häufig vor erneuter Erkrankung schützte. Den Beginn aktiver Immunisierung stellt wahrscheinlich die Variolation dar, die lokale Übertragung der Pockenerkrankung (Variola major) mit geringer Dosis durch Pockenschorf auf empfängliche Menschen. Nach Erhebung einer der eigens für die Variolation eingerichteten Londoner Pockenkliniken starben von 6456 eingelieferten Pockenkranken 1643 (Letalität 25,45 %), von 3434 Variolierten starben 10 (Letalität 0,29 %).
Die Tatsache, daß auch eine zuvor durchgemachte harmlose Kuhpockeninfektion den Menschen vor Variola major schützt, war bereits lange vor Edward Jenner bekannt, und eine bewußte Infektion mit Kuhpocken wurde in einigen bäuerlichen Familien betrieben. Das Verdienst Edward Jenners liegt darin, daß er ein Kontrollexperiment am Menschen durchführte. Am 14. Mai 1796 impfte er den Knaben James Phipps mit Pustelinhalt aus der Kuhpocke (vacca: lat. Kuh) einer Magd. Sechs Wochen später variolierte er den Jungen, ohne daß die Pocken angingen. Zunächst wurde die Vakzine von Kind zu Kind übertragen, mit dem Risiko der gleichzeitigen Übertragung anderer Infektionserreger (1803 erste deutsche Impfanstalten mit Waisenkindern als „Vakzineproduzenten" in Berlin und Köln). Nach Einführung der Kuhpockenimpfung (Vakzination) wurde die Variolation verboten (in Preußen 1835).
Die Bereitstellung einer gleichmäßig wirksamen und verträglichen Vakzine verursachte über mehrere Jahrzehnte große Probleme und gelang schließlich über Rückimpfung auf Kälber (Retrovakzine). Im Impfgesetz von 1874 wurde für das Deutsche Reich die Impfung aller Kinder mit tierischem Impfstoff vorgeschrieben. Die genaue Herkunft des Impfvirus (Vakziniavirus) läßt sich nicht mehr klären. Es ist molekularbiologisch deutlich vom Variolavirus und vom Kuhpockenvirus unterscheidbar.
In einer bislang einmaligen Initiative der Menschheit ist es der WHO (auf Vorschlag der früheren UdSSR) gelungen, durch konsequente Impfung zwischen 1967 und 1977 die Pocken weltweit auszurotten (1966: 10–15 Mio. Pockenfälle in 31 Endemieländern). Der letzte Pockenfall wurde am 26. Oktober 1977 berichtet, und die WHO hat am 8. Mai 1980 feierlich erklären können, daß die Welt frei von menschlichen Pocken ist. Die Kosten dieses Erfolges betrugen nur ca. 300 Mio. US$.
Mehrere hundert Affenpockenfälle bei Menschen in Westafrika und Zentralafrika sind beschrieben worden, meist bei nicht mit Vakzinia geimpften Kindern mit einer Letalität von 11–15 %. Die Übertragung vom Affen auf den Menschen und Übertragungen von Mensch zu Mensch sind äußerst selten. In einigen Fällen führen auch heute in Europa andere tierische Pockenviren zu Erkrankungen des Menschen, bei immunsupprimierten Patienten (Rarität) auch mit letalem Ausgang.
Zur Herstellung besserer und reinerer Impfstoffe für aktive Immunisierungen mußte man lernen, die Erreger *in vitro* zu züchten, zu quantifizieren und zu reinigen. Schließlich mußten für Totimpfstoffe Verfahren entwickelt werden, mit denen man die Erreger schonend, unter Erhaltung ihrer Antigenität inaktivieren konnte. Durch Anwendung molekularbiologischer Methoden wurde es möglich, sogenannte rekombinante Impfstoffe (z.B. Hepatitis B) herzustellen. Andererseits begann man, die molekularen Grundlagen der Pathogenität bzw. Attenuierung einiger Viren und Bakterien zu verstehen, letztendlich gelangen die Charakterisierung und Synthese antigener Determinanten. Man weiß heute, daß es für den Erfolg einer aktiven Impfung der komplexen Reaktion verschiedenster Immunmechanismen bedarf.
Die Geschichte der passiven Immunisierung beginnt am Ende des 19. Jahrhunderts. Im Dezember 1890 veröffentlichten Behring und Kitasato ihre Ergebnisse über die Bedeutung von Immunseren für die Diphtherie- und Tetanus-Immunität bei Tieren. Fast genau ein Jahr später wurde das erste Kind in Berlin mit einem Heilserum gegen Diphtherie behandelt. Die Produktion von tierischen Heilseren erfolgte in großem Stile, da diese in Ermangelung aktiver Impfstoffe und Antibiotika die einzige lebensrettende Maßnahme bei Diphtherieerkrankungen oder Tetanusexposition war. Es bestand natürlich das Problem der Serumkrankheit und sogar der Anaphylaxie nach Fremdeiweißgabe. Durch Verwendung verschiedener Tierspezies zur Serumgewinnung konnte man Seren für mehrfache sukzessive passive Tetanusimmunisierungen gewinnen.
Da vor allem bei Viruserkrankungen die Erreger anfangs noch nicht bekannt waren und somit kein Antigen für die Immunisierung von Tieren zur Verfügung stand, nutzte man für die postexpositionelle Masernprophylaxe und bei Poliomyelitis humane Rekonvaleszentenseren zur passiven Immunisierung.
Die Möglichkeit von Antikörperbestimmungen erlaubte es dann, Impferfolge zu dokumentieren und Hyperimmunglobuline mit garantiertem Antikörpergehalt gegen bestimmte Erreger zu definieren.
Die nächste Entwicklungsstufe wurde erreicht nach Entwicklung der Hybridomtechnik durch G. F. Köh-

LER und C. MILSTEIN (1975). Diese erlaubte erstmals die Herstellung von monoklonalen Antikörpern *in vitro* (s. Kap. 1.2).

12.2 Definition

Unter einer **aktiven Immunisierung** versteht man das Einbringen eines oder mehrerer Antigene in einen Organismus, um damit eine schützende humorale und/oder zellvermittelte Immunantwort auszulösen.
Die Gabe präformierter Antikörper gegen ein oder mehrere Antigene bezeichnet man als **passive Immunisierung.**

12.3 Voraussetzungen für Impfungen und Immunität

Immunität kann sowohl **Schutz vor Infektion** als auch **Schutz vor Erkrankung** meinen. Man macht sich häufig nicht klar, daß dies ein qualitativer Unterschied ist. Viele erfolgreiche Impfstoffe (z.B. Rötelnimpfstoff) schützen zwar vor Erkrankung, aber durchaus nicht vor einer Reinfektion. Die Schleimhaut-Reinfektion kann sogar erwünscht sein, da sie zur Auffrischung *(booster)* der Immunität führt, ohne Erkrankung und ohne Virämie. Wenn man andererseits an einen Impfstoff gegen HIV denkt, geht man meist stillschweigend davon aus, daß ein solcher die Infektion verhindert und setzt die Anforderungen damit sehr hoch. Damit Immunisierung gegen einen Krankheitserreger möglich wird, müssen bestimmte Voraussetzungen gegeben sein:

1. Schützende Immunität muß prinzipiell möglich sein (s. Kap. 1.2).
2. Es dürfen nicht zu viele Serotypen eines Erregers vorkommen (z.B. Rhinoviren > 100).
3. Die für Immunität relevanten Epitope eines Erregers dürfen keiner zu raschen Veränderung unterliegen (z.B. HIV).

Auch mehrfache Malariainfektionen führen zwar nur zu einer Teilimmunität, aber selbst die Tatsache, daß eine natürliche Infektion nicht zu einer schützenden Immunität führt, macht die Entwicklung eines Impfstoffes nach heutiger Ansicht noch nicht unmöglich. Vielmehr könnte es gelingen, mit Hilfe von Immunverstärkern und geeigneten Trägersubstanzen ein relevantes Antigen dem Organismus so effektiv zu präsentieren, daß es dann zu einer umfassend schützenden Immunisierung kommt.

Manche Viren (z.B. HIV, Influenza), aber auch andere Pathogene (z.B. Trypanosomen) sind in der Lage, aufgrund verschiedener genetischer Mechanismen besonders rasch Antigenvariationen zu erzeugen. Andere Viren (z.B. Hepatitis-B-Virus, Herpesviren, HIV) können mit ihrer genetischen Information in bestimmten Zellen persistieren (integriert oder episomal), ohne daß für die Immunität relevante Antigene auf den betroffenen Zellen exprimiert werden.
Einige Bakterien (z.B. gastrointestinale Infektionen) können offenbar durch Produktion von Lipopolysacchariden T-Suppressorzellen induzieren, welche ihrerseits eine (lokale) humorale Immunantwort behindern, und einige Viren (z.B. CMV) haben Immunevasionsmechanismen entwickelt (verminderte Expression von MHC-Molekülen).
Letztendlich sind Viren (Denguevirus) und Bakterien (Mykobakterien, Listerien) bekannt, bei denen die Infektion bestimmter Zellen (Monozyten/Makrophagen) durch spezifische Antikörper erleichtert wird. Bei Dengue-Fieber können präexistierende, nicht neutralisierende Antikörper zu schwereren hämorrhagischen Krankheitsverläufen führen *(Immunenhancement).*

12.4 Impfstoffe zur aktiven Immunisierung

In den Tabellen 12.1 und 12.2 sind Impfstoffe zur aktiven Immunisierung gegen Viren, Bakterien und Toxine zusammengestellt, die sich in Anwendung, Erprobung oder Entwicklung befinden.

Lebendimpfstoffe

Bei einer Lebendimpfung werden Erreger zugeführt, die sich im Impfling vermehren, ohne daß es zur Erkrankung kommt. Zur Vermeidung einer Schädigung wird meist mit attenuierten Erregern geimpft. Das Ziel kann auf verschiedenen Wegen erreicht werden:
1. Die Inokulation mit einem pathogenen Erreger erfolgt mit geringer Dosis auf einem nicht natürlichen Inokulationsweg (klassisches, wenn auch unvollkommenes Beispiel: Variolation). In den USA hat man Rekruten mit Adenoviren (Typen 4, 7 und 21) in einer magensaftresistenten Kapsel oral geimpft. Dies führt zur Immu-

Tab. 12.1 Impfstoffe zur aktiven Immunisierung des Menschen gegen Virusinfektionen

Art des Impfstoffes	Virus/Impfstämme oder Impfantigene/Inokulationswege
Lebendimpfstoff	
▪ nicht attenuiert	*Variolavirus / Skarifikation, intranasal, oral
– besonderer Inokulationsweg	Adenoviren / Typen 4,7,21/ oral (in magensaftresistenter Kapsel)
▪ tierpathogener Erreger	*Kuhpockenvirus / Skarifikation *Vakziniavirus, Rind? / Skarifikation, multiple puncture Rinder-Rotaviren / RIT 4237, WC3 / oral Rhesusaffen-Rotaviren / RRV-1 / oral
▪ attenuiert	Denguevirus Typ 2 / subkutan **Gelbfiebervirus / 17D / aus Hühnerei/subkutan** Hepatitis-A-Virus / HEF / oral **Masernvirus** / Edmonston-Zagreb, **Schwarz, Moraten,** Edmonston B / **Hühnerfibroblasten/subkutan** **Mumpsvirus / Jeryl Lynn**, Urabe Am9, Rubini, Leningrad-3 / **Hühnerfibroblasten/subkutan** Parainfluenzavirus 3 / PIV-3 ts-Mutante Poliovirus / Sabin-Stämme / oral Respiratory syncytial virus / ts-Mutante

Tab. 12.2 Impfstoffe zur aktiven Immunisierung des Menschen gegen Bakterien und Toxine

4. Üblicherweise verbindet man mit dem Begriff Lebendimpfung die Infektion mit attenuierten Viren oder Bakterien, also apathogenen Mutanten der krankmachenden Erreger. Die Attenuierung erfolgte zunächst rein empirisch durch vielfache Vermehrung auf besonderen Nährböden bzw. Zellkulturen oder auch durch Tierpassagen (z.B. Rötelnvirus-Impfstämme, Poliovirus-Impfstämme nach SABIN, BCG). Eine kälteadaptierte Influenzavirus-Variante, die sich gut im oberen Respirationstrakt, aber schlecht in der Lunge (37 °C) vermehrt, erwies sich im Experiment als genetisch recht stabil, jedoch stehen Untersuchungen am Menschen noch aus. Das methodische Repertoire der Gentechnik wird in Zukunft wohl gezielte genetische Veränderungen an pathogenen Erregern ermöglichen, die unter Erhalt der Immunogenität zum Verlust der Pathogenität führen. Wichtig ist, daß attenuierte Impfkeime hinsichtlich ihrer pathogenen Eigenschaften auch nach vielen Vermehrungszyklen stabil bleiben und somit weder die Impflinge noch eventuelle Kontaktpersonen gefährden können.

Rekombinante Impfstoffe (Lebendvektoren)

Bei Viren hat man durch Rekombination Gene für immunologisch relevante Proteine bestimmter Pathogene an geeigneter Stelle in ein weiterhin vermehrungsfähiges Vakziniavirus (Impfvirus) eingefügt. Solche Versuchsimpfstoffe wurden gegen Hepatitis B und HIV hergestellt. Auch bei bakteriellen Impfstoffen hat man diesen Weg beschritten. So wurde z.B. O-Antigen von *Vibrio cholerae* durch genetische Veränderung auf der Oberfläche des attenuierten Typhus-Impfstammes Ty21a exprimiert. Bei Bakterien kann die Einschleusung des fremden genetischen Materials über Plasmide erfolgen.
Bei den Influenza A-Viren liegt das Genom im Viruspartikel in acht völlig getrennten Segmenten vor. Hier kann man durch gezielte Zusammenstellung der Genomsegmente verschiedener Influenzaviren zu apathogenen Stämmen mit gewünschter Immunogenität kommen. Solche **Reassortanten** erhielt man z.B. durch Kombination von sechs Segmenten aviärer Influenzaviren mit zwei Segmenten humaner Stämme. Die aviären Genomsegmente sind verantwortlich für eine eingeschränkte Vermehrungsfähigkeit in der Lunge. Allerdings sind diese Reassortanten wie alle Influenza-A-Viren von antigenem „drift" und „shift" bedroht (s. Kap. 6.15).

Totimpfstoffe

Vollkeimimpfstoffe

Die einfachste Variante eines Totimpfstoffes erhält man durch vollständiges Inaktivieren der Infektiosität von Viren oder Bakterien, die dann als Impfstoffe Verwendung finden können. Die Verträglichkeit derartiger „Vollkeimimpfstoffe" hängt häufig vom Grad der Reinigung des inaktivierten Erregers ab. So hing die schlechte Verträglichkeit der ersten, aus Hirngewebe infizierter Kaninchen gewonnenen inaktivierten Tollwutvakzine mit dem Gehalt an Myelinproteinen zusammen.

Subunitvakzine

Überlegungen, nur notwendige Antigene *(Epitope)* zur Impfung einzusetzen, haben zu **Spaltimpfstoffen** (Influenza), **Extraktimpfstoffen** (Meningokokken, Pneumokokken) und **Subunitvakzinen** (Hepatitis B) geführt. Seit Jahren wird gegen Influenza mit einer durch Virusspaltung und Reinigung gewonnenen Subunitvakzine geimpft, die die beiden Hüllrezeptoren Neuraminidase (N) und Hämagglutinin (H) enthält. Sie bewirkt allerdings erfahrungsgemäß nur eine kurzdauernde Immunität. Von Extraktimpfstoffen spricht man üblicherweise bei bakteriellen Impfstoffen, die bestimmte extrahierte und gereinigte Bakterienzellbestandteile enthalten. Ein vollständig gentechnologisch in Hefe hergestellter Hepatitis B Impfstoff ist seit längerem auf dem Markt und wird mit sehr gutem Erfolg eingesetzt.
Limitationen ergeben sich bisher bei den Subunitvakzinen aus den Herstellungskosten, dem Verlust einer bei Erregervarianten notwendigen Antigenbreite und zu geringer Immunogenität.

Toxoidimpfstoffe

Von den Subunitvakzinen abgegrenzt sind die Toxoidimpfstoffe, bei denen es sich nicht um Strukturbestandteile der Erreger handelt, sondern um Exotoxine. Bei den Impfstoffen gegen Tetanus und Diphtherie sind dies gereinigte, mit Formalin und Wärme entgiftete Exotoxine, die zur Steigerung der Immunogenität an Aluminiumhydroxid adsorbiert werden. Antigen läßt sich bei diesen Impfstoffen leicht in ausreichender Menge gewinnen. Der so erhaltene Impfstoff ist hervorragend immunogen und erzeugt naturgemäß eine antitoxische und keine antiinfektiöse Immunität.

Kombinationsimpfstoffe

Impfung ist als freiwillige prophylaktische Maßnahme immer auch ein Motivationsproblem. Bereits aus diesem Grund, aber auch angesichts eines sich füllenden Impfkalenders wäre es er-

strebenswert, mit einem Impfvorgang möglichst viele Erreger zu erfassen. Von einem zugelassenen Kombinationsimpfstoff ist zu fordern, daß er bei vergleichbarer Immunogenität der Einzelbestandteile nicht mehr Nebenwirkungen hervorruft als die Einzelkomponenten. Darüber hinaus müssen natürlich vergleichbare Impfindikationen für die Einzelkomponenten eines Kombinationsimpfstoffes bestehen. Auch die bereits erwähnten rekombinanten Lebendimpfstoffe wären Kombinationsimpfstoffe und ebenso der neu entwickelte Impfstoff gegen *Haemophilus influenzae* Typ b, bei dem das Kapselpolysaccharidantigen zur Immunverstärkung kovalent an Diphtherietoxoid gebunden ist (Tab. 12.3).

Impfstoffproduktion in transgenen Pflanzen

Das Bestechende an der Produktion von Impfstoffen in pflanzlichen Nahrungsmitteln (z.B. Banane) ist die Möglichkeit, die Antigene einfach oral zu verabreichen. Zusätzlich könnten auf diese Weise billige Antigene ohne die Erfordernis von Zellkultursystemen oder aufwendigen Technologien produziert werden; eine attraktive Alternative besonders für weniger entwickelte Länder. Durch den Einsatz gewebespezifischer Promotoren ist eine effiziente Expression des jeweiligen Antigens in der zu konsumierenden Frucht möglich. Es konnte bereits gezeigt werden, daß in Pflanzen produziertes HBsAg immunogen ist. Problematisch an dieser Methode ist noch, ob die orale Gabe eine ausreichende Immunantwort induzieren kann oder aber zu einer Toleranzentwicklung führt. Weitere offene Fragen sind die Quantifizierung der Antigenmenge (z.B. Gramm pro Frucht) und die Definition einer erforderlichen „Impfdosis". Statt der transgenen Pflanzen ist ein weiterer Ansatz die Nutzung rekombinanter Pflanzenviren. Das Antigen wird hierbei nach der Infektion in der Pflanze produziert. Auf diese Weise wurden bereits Antigene des Tollwutvirus und des HIV-1 exprimiert.

DNA-Immunisierung

Bei dieser Methode wird die für ein Antigen kodierende DNA in ein Plasmid integriert, in Bakterien vermehrt und schließlich hoch gereinigt. Letztendlich liegen die Plasmide in reiner Form als „nackte DNA" ohne zelluläre Beimischungen vor. Dies alles ist mit

Tab. 12.3 Kombinationsimpfstoffe zur Anwendung beim Menschen

Impfstoffpräparation	Präparate	Antigene
Kombination mehrerer Lebendimpfstoffe	■ Masern-Mumps (MM)	Masernvirus Moraten <Schwarz > Mumpsvirus Jeryl-Lynn <Urabe Am 9>
	■ Masern-Mumps-Röteln (MMR)	MM Rötelnvirus RA27/3
rekombinanter Lebendimpfstoff	■ Vakzinia-HIV (experimentell)	rekomb. Vakziniavirus WR mit Expression von HIV-env Antigenen
	■ *S.typhi-V.cholerae* (experimentell)	*Ty 21a* mit Expression des O-Antigens von *V. cholerae*
Kombination mehrerer Toxoide und/oder Antigene	■ Diphtherie-Tetanus-Toxoide (DT) (für Kinder)	Di- und Te-Toxoid (je 50 I.E)
	■ Tetanus-Diphtherie (Td) (Erwachsene)	Te- (50 I.E.) und Di-Toxoid (niedriger dosiert, 5 I.E. =1/10)
	■ DT, (azellulär) Pertussis (aP) (Kinder)	Di- und Te-Toxoid und Pertussis (Adsorbat-Impfstoff)
	DT, aP, *Haemophilus influenzae* Typ b (Hib) (Kinder)	Kapselpolysaccharid (PRP) an Di-Toxoid
	■ DT, Hib	
	■ DT, P, Hib (Erwachsene)	Kapselpolysaccharid Hib +
	■ Hib – *Neisseria meningitidis b*	Membranproteinkomplex (OMPC) von *N.meningitidis b*
Totimpfstoffkombination aus Vollkeim, Toxoiden und Antigen	■ IPV, DT-Toxoid, aP, Hib, DT, P	Polioviren Mahony, MEF-1, Saukett
Kombination von Antigen und Vollkeim	■ HAV, HBV	HBsAg (gentechnisch), HAV

< > = alternative Zusammensetzung: Dosis / Impfstamm

Tab. 12.4 Vorteile und Nachteile verschiedener Impfstoffarten

Impfstoff	Vorteile	Nachteile
Lebend-impfstoff	▪ natürliche(r) Infektion(sweg) optimal imitierbar mit lokaler Immunantwort (z.B. Polio oral – IgA-Produktion) ▪ geringe Antigendosis im Impfstoff – Impfling vermehrt Antigene selbst gesamtes Antigenspektrum des Erregers ▪ rasche Immunantwort ▪ gute humorale und T-Zell-Immunität ▪ langdauernde (lebenslange) Immunität ▪ wenige Impfdosen (Termine) ▪ Weiterverbreitung stabiler Impfviren (z.B. Polio-Abriegelungsimpfungen) ▪ kein Adjuvans erforderlich ▪ kostengünstige Impfstoffe möglich	▪ virulente Rückmutationen möglich mit Infektion von Kontaktpersonen ▪ seltene Impfkrankheit möglich ▪ Sicherheitsproblem bei hochpathogenen Erregern (z.B. Tollwut, HIV) ▪ in der Schwangerschaft generell nicht indiziert (außer: Polio oral) ▪ bei Immundefizienz kritische Indikationsstellung ▪ Transport und Lagerung (Kühlkette) ▪ Abstand zwischen verschiedenen Impfungen (einige Kombinations-Impfstoffe möglich, aber ggf. Interferenzprobleme) ▪ Restrisiko durch unerkannte kontaminierende Erreger
rekombinanter Lebend-impfstoff	▪ Kombination einiger Vorteile von apathogenen Lebendimpfstoffen und Subunitvakzinen (z.B. bei hochpathogenen Erregern)	▪ bislang limitierte Auswahl an apathogenen Lebendvektoren ▪ Immunität gegen Vektor verhindert Impferfolg
Totimpfstoff, allgemein	▪ kein Infektiositätsrisiko ▪ Transport und Lagerung unkritischer ▪ Kombinationsimpfungen problemlos ▪ Impfung bei Immundefizienz möglich	▪ große Antigenmenge im Impfstoff erforderlich (z.B. Toxoidimpfstoffe) ▪ mehrfache Impfung erforderlich – langsames Erreichen der Immunität ▪ meist weniger immunogen als Lebend-

these und Antigenpräsentation wie bei einer regulären Virus- oder Bakterieninfektion. Auf diese Weise wird sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunantwort stimuliert. Theoretisch kann eine nahezu unbegrenzte Zahl verschiedener Gensequenzen für unterschiedliche Antigene verabreicht werden. Nachteile sind bisher z.B., daß große DNA-Mengen verimpft werden müssen, die noch nicht ausreichend geklärte Frage, ob Toleranz induziert wird und ob die Produktion von anti-DNA-Antikörpern gefördert werden könnte.

Vergleich verschiedener Aktivimpfstoffe

Verschiedene Erreger

Vergleicht man die zur Zeit verfügbaren Impfstoffe, so zeigt sich, daß die Virusimpfstoffe und Toxoidimpfstoffe in den meisten Fällen hinsichtlich der Schutzrate und Schutzdauer deutlich wirksamer sind als solche gegen Bakterien. Viren sind nahezu ideale Immunogene: ihre Antigenstrukturen sind meist Proteine und kommen auf der an sich kleinen Virusoberfläche in vielen Kopien vor. Bei vielen Virusinfektionen kommt es zur Bildung hoher Antikörpertiter, die mit dem Schutz vor Infektion und/oder Erkrankung des Menschen zumindest parallel verlaufen. Akute, nicht persistierende Virusinfektionen führen entsprechend häufig auch nur einmal im Leben zur Erkrankung (von Sonderfällen kann in diesem Zusammenhang abgesehen werden). Ähnliches gilt auch für die bakteriellen Toxine. Es gibt aber durchaus Viren, die Strategien zur Persistenz im einmal infizierten Organismus entwickelt haben, (z.B. Herpesviren, HIV) oder Viren, bei denen die zellvermittelte Immunantwort ausschlaggebend für die Beendigung der Infektion ist.

Viele Bakterienantigene (Kapselantigene) sind auch bei normaler infektionsbedingter Exposition im Organismus nur mäßig immunogen. Die Infektabwehr ist bei bakteriellen Infektionen kompliziert, und Antikörper wirken häufig nur im Zusammenspiel mit anderen Abwehrmechanismen. Bei Bakterien gibt es die Besiedelung von Schleimhautoberflächen mit fakultativ pathogenen Erregern, ein Phänomen, das es bei Viren nicht gibt. Gerade auch bei zukünftigen bakteriellen Impfstoffen wird es darauf ankommen, dem Organismus des Geimpften die relevanten Antigene in ideal immunogener Weise zu präsentieren. Bei den **Parasiten** sind die Verhältnisse noch schwieriger, so daß bislang kein antiparasitärer Impfstoff routinemäßig beim Menschen angewendet werden kann.

Unterschiedliche Herstellungsverfahren

Eine für jeden Fall ideale Methode zur Impfstoffherstellung gibt es in der Praxis nicht. Dies gilt auch in Bezug auf die Frage Tot- oder Lebendimpfstoff. Zur Erläuterung sind in Tab. 12.4 einige Vorteile und Nachteile der o.a. Impfstoffe zusammengestellt. Alle immunologischen Erfolge der natürlichen Infektion sollen auch vom Impfstoff mindestens erreicht werden. Das Argument erwünschter Repräsentanz aller relevanten Antigene und einer möglichst breiten humoralen und zellvermittelten Immunantwort spricht eher für einen Lebendimpfstoff. Bei Beschränkung auf ein gentechnisch hergestelltes Oligopeptid, welches nur einem relevanten Epitop entspricht, wird sich bei manchen Erregern sicher das Problem von sogenannten „escape“ Mutanten ergeben, die eine Mutation in diesem einen Epitop tragen und damit der durch Impfung erreichten Immunantwort entgehen. Sicherheitsaspekte sprechen für Totimpfstoffe. Quintessenz ist, daß es auf unabsehbare Zeit verschiedenartige Impfstoffe geben und auch die Entwicklung mehrgleisig bleiben wird.

12.5 Impfstoffe für eine passive Immunisierung

Die passive Immunisierung mit präformierten Antikörpern ist gegen manche Krankheitserreger möglich. Es resultiert eine vorübergehende „Leihimmunität“. Die z.Zt. zur Verfügung stehenden Antikörperpräparationen sind in Tab. 12.5 zusammengefaßt. Beim Einsatz von Antikörpern sind die Indikationen bereits heute weit über den infektiologischen Bereich hinaus gespannt (s.u.).

Heterologe Antikörperpräparationen („Heilseren“ vom Tier)

Man muß bestrebt sein, eine Anwendung dieser tierischen Immunglobuline zu vermeiden, da sich Probleme aus einer Sensibilisierung gegenüber dem Fremdprotein in Form der Serumkrankheit oder auch Anaphylaxie ergeben. Heterologe Antiseren sind darüber hinaus weniger lange wirksam als homologe, da sie auch vom Immungesunden rascher abgebaut werden. Ähnliches gilt auch für monoklonale Antikörper von tierischen Hybridomen. Dennoch gibt es in Ermangelung entsprechender Präparate huma-

Tab. 12.5 Antikörperpräparationen zur passiven Immunisierung

Bezeichnung	Definition – Präparation	Bemerkungen
Heterologe Immunglobuline / Antikörper		
Hyperimmunseren vom Tier	▩ Serum von einem immunisierten Tier; u.U. gereinigte Antikörperpräparation; früher partiell pepsinverdautes (2 Tage, 37 °C) Fermoserum	Anwendung bei Fehlen einer homologen Ig-Präparation und vitaler Indikation; cave: Serumkrankheit, Anaphylaxie
Monoklonale Antikörper	▩ in vitro von einem Hybridom sezernierte Maus- oder Rattenantikörper	kochspezifischer Antikörper gegen ein Epitop; Sensibilisierung gegen Ig-Isotypen möglich
Homologe Immunglobuline / Antikörper		
Standardimmunglobulin vom	▩ aus einem Serumpool von mindestens 1000 Spendern gewonnene Ig-	gut verträglich; cave: Sensibilisierung gegen IgA in einer Präparation bei

recht viskösen 16–16,5%igen Lösungen zur i.m. Injektion können zu einem Zeitpunkt kaum mehr als 4 x 5ml an verschiedenen Körperstellen verabreicht werden (etwa 3 g).
Die für eine intravenöse Applikation vorgesehenen Präparate sind so hergestellt, daß sie keine Immunkomplexe enthalten und damit nicht zur generalisierten Komplementaktivierung mit entsprechender klinischer Symptomatik führen können. Dies wurde früher durch peptische Verdauung (1:100 Pepsin) der Fc-Fragmente nach der COHNschen Alkoholfraktionierung erreicht und hatte eine verminderte biologische Funktion dieser Antikörper zur Folge (COHN-Fraktion II enthält überwiegend IgG mit Spuren von IgA und IgM sowie wenige andere Serumproteine. Sie war und ist Ausgangsmaterial der meisten Ig-Präparationen). Mittlerweile kann man sogenannte native, haltbare i.v.-verträgliche Präparate herstellen. Dies gelingt durch Einstellen des pH der COHN-Fraktion II auf 4 und gleichzeitige Zugabe minimaler Pepsinmengen (1:100000). Aber auch andere Fällungsverfahren, Ultrafiltrationsverfahren und chromatographische Methoden werden eingesetzt.
Probleme der Infektionssicherheit ergeben sich bei **monoklonalen Antikörpern (mAk)** nicht, zumal wenn es in Zukunft möglich werden sollte, mAk ohne Zellfusion durch direkte Klonierung von Ig-Genen (variable Regionen) entsprechend stimulierter B-Zellen zu erhalten. Monoklonale Antikörper zeichnen sich dadurch aus, daß alle Antikörpermoleküle einer Präparation

12.6 Impfstrategien, Impfpolitik

Impfstrategien

Ist ein guter Impfstoff verfügbar, für den auch die Transport- und Lagerbedingungen unbedingt einzuhalten sind (Tab. 12.6), lassen sich drei Hauptziele formulieren, die man durch die Impfung erreichen kann:

1. Individualschutz eines Geimpften.
2. Anhaltende Verdrängung eines Erregers aus einer Population.
3. Weltweite Ausrottung eines Erregers oder zumindest Ausrottung in einem Erdteil.

Bei den beiden letzten epidemiologischen Zielen besteht naturgemäß ein erhebliches Interesse der Allgemeinheit. Ob man das Ziel einer Ausrottung tatsächlich erreichen kann, hängt neben der Qualität und umfassenden Anwendung eines Impfstoffes auch ganz entscheidend vom jeweiligen Erreger ab. Einige Voraussetzungen für die Möglichkeit der Ausrottung eines Erregers sind:

- Es darf kein extrahumanes Reservoir geben, d.h. der Mensch sollte der einzige Wirt des Erregers sein.
- Es sollte möglichst nur einen oder wenige serologische Typen des Erregers geben.
- Es sollte keine chronisch Infizierten mit chroni-

- Der Impferfolg sollte leicht zu überprüfen sein.
- Die Kosten bei Erkrankung sollten hoch liegen und die Impfung billig sein.

Prüft man Krankheitserreger anhand dieser Liste, so stellt man fest, daß einige (z.B. Pockenvirus) den Anforderungen ideal und andere teilweise (z.B. Hepatitis B-Virus, Poliovirus) entsprechen. Wieder andere kommen für eine Ausrottung durch Impfung nicht in Frage (z.B. Influenzavirus).
Nicht immer ist es möglich, einen Erreger vollkommen auszurotten, und dennoch gelingt es, ihn dauerhaft aus einer Population zu verdrängen und damit Erkrankungen zu verhindern. Abhängig ist dies von der notwendigen Dichte empfänglicher Personen in einer Population, die der jeweilige Erreger zum endemischen oder epidemischen Auftreten benötigt. Hierfür sind insbesondere das Fehlen eines extrahumanen Reservoirs, aber auch die spezifische Kontagiosität und der Übertragungsmodus bedeutsam. Solange z.B. ein bestimmter Prozentsatz der Bevölkerung gegen Poliovirus geimpft (immun) ist, kommt es nicht zu Poliomyelitis-Ausbrüchen und auch die nicht Geimpften leben damit unter dem Schutz der Geimpften *(Herdimmunität)*.
Viele Impfungen dienen „nur“ dem Individualschutz. Das Vorhandensein des Erregers wird durch die Impfung nicht beeinflußt (z.B. *Clostridium tetani)*.

Die angesprochenen Impfziele stellen die Situation vereinfacht dar. Es gibt durchaus noch andere epidemiologisch positive Auswirkungen von Impfungen, die primär nicht geeignet sind, den Erreger auszurotten. So kann das Gelbfiebervirus zwischen Affen, zwischen Affe und Mensch und von Mensch zu Mensch durch Stechmücken (Aedesarten) übertragen werden. Auch innerhalb der Mückenpopulation ist Virusübertragung (transovariell) möglich. Ein ungeimpfter, infizierter Mensch kann durch raschen Ortswechsel das Gelbfiebervirus in eine Gegend mit zuvor virusfreier Mückenpopulation verschleppen.

Impfpolitik, gesetzliche Bestimmungen

Die Impfpolitik eines Landes, also die Festlegung von Impfempfehlungen und Impfplänen, wird primär von der geographisch und sozioökonomisch gegebenen Gefährdung durch bestimmte Erreger bestimmt. Daneben müssen beim Vorgehen aber auch die Ziele berücksichtigt werden, die man mit den Impfungen erreichen will (s.o.).

Dies sei am alten Problem der Röteln-Impfpolitik erläutert. Will man das nur für den Menschen infektiöse Rötelnvirus ausrotten, so muß man versuchen, idealerweise alle Kleinkinder beiderlei Geschlechts aktiv zu impfen, um dem Virus effektiv „den Boden zu entziehen“. Will man „nur“ die Embryopathie, also letztlich die Infektion schwangerer Frauen verhindern, so reicht es, alle kurz vor der Pubertät noch seronegativen (d.h. alle bis dahin nicht natürlich infizierten) Mädchen erfolgreich zu impfen. Beide Impfstrategien sind in der Vergangenheit parallel von den Nordamerikanern einerseits und einigen europäischen Ländern andererseits verfolgt worden.

Eine allgemeine **gesetzliche Impfpflicht** hat es in Deutschland nur bei der Pockenimpfung gegeben. Es galt vom 8. April 1874 bis zum 24. November 1982 (im Deutschen Reich und anschließend in der Bundesrepublik) das Impfgesetz, wonach jedes Kind, bei dem nicht medizinische Gründe dagegen sprachen, gegen Pocken zu impfen war.
Das Bundesgesundheitsministerium oder die obersten Gesundheitsbehörden der Länder können die Durchführung von Impfungen anordnen, wenn Gefahr im Verzug ist. Das Soldatengesetz verpflichtet Angehörige der Bundeswehr zur Hinnahme der Tetanusimpfung.
Manche Länder in Endemiegebieten fordern von Einreisenden den Nachweis einer nach den internationalen Regeln der WHO „gültigen“ Impfung (z.B. Gelbfieberimpfung in westafrikanischen Ländern). Die Bescheinigung dieser Impfungen hat in einem internationalen Impfausweis zu erfolgen.
De facto vollzieht sich die Impfpolitik in den Bundesländern durch die öffentlich **empfohlenen Impfungen** (Abb. 12.1). Diese Impfungen sollen jedem Bürger oder allen Mitgliedern einer bestimmten Altersgruppe kostenfrei zugänglich gemacht werden. Die Beratung hinsichtlich der öffentlich zu empfehlenden Impfungen bzw. Impfpläne (s. Impfindikationen) obliegt der ständigen Impfkommission (STIKO). Als sinnvolle Konsequenz dieser Regelungen ist eine Entschädigung nach Eintreten eines **Impfschadens** nach öffentlich empfohlenen oder angeordneten Impfungen festgelegt. Ansprechpartner im Falle eines Impfschadensverdachtes sind die Versorgungsämter.
Eine zweite Aufgabe des Staates ist die Sorge für die Anwendung möglichst wirksamer und nebenwirkungsfreier Impfstoffe. Bis vor kurzem mußten alle Impfstoffe, die in der Bundesrepublik Verwendung finden, vom *Bundesamt für Sera und Impfstoffe* (PAUL-EHRLICH-*Institut*

Impfstoff/ Antigenkombinationen	Lebensmonat Geburt	2	3	4	5	12–15	Lebensjahr 5–6	11–18
DTaP*			1.	2.	3.	4.		
aP*								A
Hib			1.	siehe 1)	2.	3.		
IPV**			1.	siehe 1)	2.	3.		A
HB	siehe 2)		1.		2.	3.		G
MMR***						1.	2.	G
DT/Td****							A	A

Um die Zahl der Injektionen möglichst gering zu halten, sollten vorzugsweise Kombinationsimpfstoffe verwendet werden. Impfstoffe mit unterschiedlichen Antigenkombinationen von D/d, T, aP, HB, Hib, IPV sind bereits verfügbar oder in Vorbereitung. Bei Verwendung von Kombinationsimpfstoffen sind die Angaben des Herstellers zu den Impfabständen zu beachten.

1) **Antigenkombinationen, die eine Pertussiskomponente enthalten, werden nach dem DTaP angegebenen Schema benutzt.**
2) Impfschema: 0, 1, 6 Monate; als postexpositionelle Hepatitis-B-Immunprophylaxe bei Neugeborenen HBsAg-positiver Mütter bzw. Mütter mit unbekanntem HBsAg-Status.
A Auffrischimpfung: Erfolgte die letzte Impfung mit entsprechenden Antigenen vor weniger als 12 Monaten, kann der Termin entfallen.
G Grundimmunisierung für alle Kinder und Jugendliche, die bisher nicht geimpft wurden, bzw. Komplettierung eines unvollständigen Impfschutzes.
* Abstände zwischen erster und zweiter sowie zweiter und dritter Impfung mindestens 4 Wochen, Abstand zwischen dritter und vierter Impfung mindestens 6 Monate.
** Bei Verwendung von IPV-Virelon® nur zweimalige Impfung. Siehe Beipackzettel.
*** **Die zweite MMR-Impfung kann bereits vier Wochen nach der ersten MMR-Impfung erfolgen.**
**** Ab 6. bzw 7. Lebensjahr wird zur Auffrischung ein Impfstoff mit reduziertem Diphtherietoxid-Gehalt (d) verwendet.

Abb. 12.1 Impfkalender für Säuglinge, Kinder und Jugendliche. Empfohlenes Impfalter und Mindestabstände zwischen den Impfungen (nach STIKO, Stand Mai 2001)

[PEI], Langen) zugelassen werden. Mittlerweile geschieht dies auf europäischer Ebene, wobei das PEI eine der Zulassungsstellen ist. Es ist möglich, über die internationale Apotheke Impfstoffe zu beziehen, die nicht in Deutschland zugelassen sind, aber nach ausführlicher Patientenaufklärung verabreicht werden können (z.B. Impfstoff gegen Japan-B-Enzephalitis-Virus). Auf internationaler Ebene hat die WHO für einige Impfstoffe Anforderungen hinsichtlich Produktion und Inhalt formuliert.

12.7 Impfindikationen

Regelimpfungen

Unter Regelimpfungen oder auch Standardimpfungen versteht man solche, die jeder Bundesbürger erhalten sollte. Eine individuelle Indikation wird hier nicht gestellt, es wird vielmehr geprüft, ob im Einzelfall Kontraindikationen vorliegen. Damit entsprechen sie inhaltlich den öffentlich empfohlenen Impfungen. Da es sich um Länderempfehlungen handelt, können diese von Bundesland zu Bundesland etwas unterschiedlich sein. Eine Neuerung ist, daß für Deutschland nun die Impfung mit dem inaktivierten Polioimpfstoff an die Stelle des Oralimpfstoffes getreten ist. Auch wird für Kinder ein Pertussisimpfstoff empfohlen, der nicht mehr als Vollkeimimpfstoff vorliegt, sondern als Subunitvakzine (Pertussis azellulär), dadurch kann eine Reduktion der neurologischen Nebenwirkungen erzielt werden.

Indikationsimpfungen

Bei einer absehbaren Exposition gegenüber einem Krankheitserreger wird man versuchen, eine zeitlich geplante aktive Immunisierung vorzunehmen. Auch wenn eine passive Immunisierung mit entsprechend kurzer Wirkungsdauer prinzipiell möglich ist, wird man sich nur dann dafür entscheiden, wenn entweder kein aktiver Impfstoff verfügbar ist oder wenn die Exposition so rasch erfolgen kann, daß aktive Immunisierung nicht mehr in Frage kommt. Auch die berufliche Exposition ist eine gängige Impfin-

dikation (z.B. Krankenschwester, Arzt, Entwicklungshelfer, Prostituierte).

Reiseimpfungen

Der Begriff Reiseimpfungen deckt Impfungen ab, bei denen eine Reise die einzige Indikation ist (z.B. Gelbfieber, Typhus). Ein wichtiger psychologischer Nachteil dieses Begriffes ist, daß darüber leicht vergessen wird, daß Reisen auch eine wichtige Indikation für die Grundimmunisierung und Auffrischung von Regelimpfungen (z.B. Tetanus-, Diphtherie- und Polioimpfung) sind (Tab. 12.7a–c).

Postexpositionelle Immunprophylaxe (Inkubationsimpfungen), passiv/aktiv

Von einer postexpositionellen Immunprophylaxe spricht man, wenn die Impfung nach einer anzunehmenden Infektion vorgenommen wird, um entweder das Angehen der Infektion zu verhindern oder doch zumindest den Ausbruch der

Erreger zu Erreger sehr unterschiedlich und hängt von dessen Inkubationszeit und Pathogenese ab, aber auch von der Art der Infektion. Es ist leicht einzusehen, daß der Stich mit einer Hepatitis B-Virus kontaminierten Kanüle andere Voraussetzungen für den Erfolg einer postexpositionellen Prophylaxe bietet als die Transfusion einer hochinfektiösen Blutkonserve.

Kombinationen von aktiven mit passiven Impfungen sind bei vielen Totimpfstoffen und den Toxoidimpfstoffen postexpositionelle Routinemaßnahmen und u. U. absolut indiziert (Tollwutimpfung, Tetanusimpfung, Hepatitis B-Impfung). Der Erfolg der aktiven Impfung wird bei diesen Impfstoffen nicht durch die gleichzeitig gegebenen spezifischen Antikörper eingeschränkt, vielmehr dienen diese dazu, den Zeitraum bis zum Auftreten der selbstgebildeten Antikörper zu überbrücken. Bei Lebendimpfstoffen, deren Wirksamkeit darauf beruht, daß sich das Impfantigen im Organismus vermehrt, ist die Kombination des aktiven mit einem passiven Impfstoff in aller Regel nicht sinnvoll. In

Tab. 12.7b Impfplan für Auslandsreisende ohne vorhandene Grundimmunisierungen (bei begrenzter Zeit)

Impftermine	Lebendimpfstoffe	Totimpfstoffe
1. Termin	Gelbfieber	1. Teil der Grundimmunisierung gegen folgende Erreger (je nach Indikation): Poliomyelitis (IPV), Tetanus-Diphtherie (Td), Hepatitis B, FSME, Hepatitis A
2. Termin ca. 6 Wochen später	Typhus (Typhoral L)	2. Teil der Grundimmunisierung gegen folgende Erreger (je nach Indikation): Tetanus-Diphtherie (Td), FSME, Hepatitis A
3. Termin 1–2 Wochen nach dem 2. Termin		2. Teil der Grundimmunisierung gegen folgende Erreger (je nach Indikation): Poliomyelitis (Salk), Hepatitis B, ggf. Immunglobulingabe
Die Grundimmunisierungen werden ca. 6 Monate später im Ausland beendet oder nach der Rückkehr von der Reise		

Tab. 12.7c Impfplan für Auslandsreisende bei vorhandenen Grundimmunisierungen

Impftermine	Lebendimpfstoffe	Totimpfstoffe
1. Termin	Gelbfieber Typhus (Typhoral L)	Auffrischimpfungen je nach Bedarf und Indikation: Tetanus-Diphtherie (Td), FSME, Hepatitis A
2. Termin 10 Tage später, einige Tage vor Abfahrt	Poliomyelitis (OPV)	Auffrischimpfungen je nach Bedarf und Indikation: Hepatitis B, ggf. Immunglobulingabe

borenen, Knochenmarktransplantierten) wurden Immunglobuline ohne spezifische Indikation erprobt. Die Ergebnisse einzelner Studien waren durchaus positiv, z.T. aber auch widersprüchlich, so daß eine allgemeingültige abschließende Beurteilung und exakte Indikationsstellung noch nicht möglich erscheint.

Bewährt hat sich sowohl die orale Gabe von homologen Immunglobulinen bei Frühgeborenen zur Verhinderung nekrotisierender Gastroenteritiden, als auch die orale prophylaktische und therapeutische Gabe von bovinem-Ig aus Kolostralmilch an Kinder und Erwachsene bei Gastroenteritiden (Diarrhoe).

Bei Kindern mit symptomatischen HIV-Infektionen hat sich die regelmäßige Gabe von IVIG (300–400 mg/kg KG alle 3–4 Wochen) zur Verhinderung gehäufter bakterieller Infektionen bewährt. Das gleiche Vorgehen hat bei erwachsenen HIV-Patienten keine deutlichen Vorteile erbracht. Bei diesen Patienten spricht man auch von einem funktionellen B-Zell-Defekt.

Tierische Hyperimmunseren, die gegen das Gift eines bestimmten Tieres (z.B. Kobra) oder gegen Schlangen eines ganzen Erdteiles gerichtet sind, finden weltweit Anwendung bei Bißverletzungen durch Giftschlangen und Skorpione.

Fab-Fragmente eines spezifischen Schafantikörpers und mittlerweile auch ein monoklonaler Antikörper (Maus-Hybridom) gegen Digoxin finden Anwendung bei lebensbedrohlicher Digitalis-Intoxikation.

Immunmodulation – Immuntherapie

Das bekannteste Beispiel für Immunmodulation durch Antikörpergabe dürfte die sogenannte Anti-D-Prophylaxe sein. Die Schwangerschaft einer Rhesus (D)-negativen Frau von einem Rhesus (D)-positiven Mann macht nach Beendigung der Schwangerschaft die

Komplement lysieren kann. Dieser mAk kann vor Knochenmarktransplantation dazu dienen, sowohl im Transplantat (entnommenes Spenderknochenmark) als auch *in vivo* im Empfänger reife B- und T-Zellen zu eliminieren, was derzeit die effektivste Prophylaxe gegen eine „graft versus host reaction“ bzw. „host versus graft reaction“ darstellt. Inwieweit dieses Vorgehen wegen der Elimination $CD8^+$ Lymphozyten vermehrt zu Infektionen führt, wird z. Zt. untersucht.

Regulation durch aktive Immunisierung

Die Hormon- oder Enzymwirkung eines Proteins läßt sich durch mAk gegen das Protein verändern und zwar sowohl im Sinne einer Verminderung, als auch, in anderen Fällen, einer Verstärkung. Wenngleich vor allem der Verstärkungsmechanismus nicht aufgeklärt ist, konnte die Wirksamkeit doch bei Tieren eindrucksvoll belegt werden.

Mehrere Ansätze werden – auch unter Beteiligung der WHO – verfolgt, die klären sollen, ob eine praktikable Geburtenkontrolle mit Hilfe aktiver Immunisierung möglich ist. Es bieten sich mehrere Antigene des weiblichen oder männlichen Organismus an. In Tierexperimenten konnte die Fertilität weiblicher Tiere durch Immunisierung mit Laktatdehydrogenase (LDH-C4) aus Sperma vermindert werden. Der Effekt war abhängig von der Menge gebildeter Antikörper und nahm parallel zum Antikörpertiter ab. Noch bessere Erfolge konnten im Primatenmodell durch Induktion von Antikörpern gegen humanes Choriongonadotropin nach Immunisierung mit einem 37 Aminosäuren langen C-terminalen Peptid der β-Kette erzielt werden. Eine Phase I Untersuchung mit diesem Impfstoff wurde bereits bei infertilen Frauen durchgeführt. Viele Probleme (vor allem ethische) stehen einer raschen

verdacht sofort ein Mikrobiologe/Virologe eingeschaltet werden, um diesen zu verifizieren. Jeder Fall sollte gemeldet werden, auch wegen einer möglichen Entschädigung (s.o. gesetzliche Bestimmungen). Gute Impfstoffe sind die eine Voraussetzung für Nebenwirkungsfreiheit, darüber hinaus kann der Impfarzt durch Beachtung einiger Regeln dazu beitragen, Komplikationen zu vermeiden.

Impfungen bei akuten und chronischen Erkrankungen

Bei Vorliegen einer Kontraindikation muß die Impfindikation im Einzelfall besonders sorgfältig abgewogen werden. **Akut an Infektionen** erkrankte Menschen sollen prinzipiell nicht aktiv geimpft werden. Dies gilt für Totimpfstoffe mehr oder weniger streng in Abhängigkeit von der Schwere der Erkrankung (subjektives Befinden, objektive Befunde z.B. Fieber und Therapiebedürftigkeit, Antibiotika) und gilt streng für Lebendimpfstoffe. Impfungen sind bei **chronischen Erkrankungen,** auch **chronischen Infektionskrankheiten,** die nicht das ZNS betreffen, nicht absolut kontraindiziert (s.u.). Eine passive Immunisierung mit homologem Immunglobulin ist immer möglich, solange keine bekannte spezifische Unverträglichkeit vorliegt oder ein selektiver IgA-Defekt bekannt ist.
Zwei entscheidende Gesichtspunkte sind: liegt ein **Immundefekt** beim Patienten vor und/oder ist mit einer Exazerbation der Grunderkrankung durch die Impfung zu rechnen. Während zur Bedeutung von Immundefekten einiges bekannt ist und ein Risiko definiert werden kann, gibt es zur Frage der Exazerbation einer Grunderkrankung wenig konkrete Daten. Vor und nach geplanten Operationen sollte bei normalem Verlauf ein Abstand von 6 Wochen zu Impfungen eingehalten werden (Ausnahme Tetanusimpfung). Bei Totimpfstoffen ist das Argument eine schwächere Immunantwort, bei Lebendimpfstoffen eine höhere Komplikationsgefahr. Insbesondere eine Tonsillektomie sollte nur mit Abstand von einer oralen Polioimpfung (OPV) durchgeführt werden.

Impfungen bei Immundefekten

Ein angeborener (SCID), erworbener (AIDS) oder iatrogen verursachter Immundefekt (onkologische Chemotherapie) ist zunächst eine Kontraindikation für Lebendimpfungen, weil es zu Erkrankungen durch den für Immungesunde apathogenen Impfkeim oder sogar wie bei Polio-Lebendimpfstoff zur ungewöhnlichen Persistenz des Impfvirus im Darm mit Dauerausscheidung kommen kann. Diese Einschränkung verliert jedoch an praktischer Relevanz, da die Empfehlungen hinsichtlich der Polioschutzimpfung geändert wurden. Die Grundimmunisierung sollte bei allen Personen, insbesondere natürlich bei Patienten mit Immundefekt, mit Hilfe des inaktivierten Salk-Impfstoffes (IPV) durchgeführt werden. Aktive Impfungen mit Totimpfstoffen und passive Immunisierungen mit homologen Immunglobulinen sind, auch bei Immundefizienten, möglich.
Auch für die Situation der Immundefizienz hat sich gezeigt, daß ein Abwägen von Nutzen und möglichem Schaden sinnvoll ist. Es wurde festgestellt, daß eine Masernerkrankung für **AIDS-kranke Kinder** lebensbedrohlich ist, während die Impfung bei noch nicht manifestem Immundefekt gut vertragen wird. Die derzeitige Empfehlung besagt: HIV-infizierte Kinder können die gleichen Impfungen erhalten wie nicht infizierte Kinder. Die BCG-Impfung ist bei HIV-infizierten Kindern und Erwachsenen kontraindiziert, ansonsten können auch Erwachsene normal geimpft werden. Bei ARC oder AIDS können indizierte Totimpfstoffe gegeben werden; Lebendimpfstoffe sind zu vermeiden.
Kinder unter onkologischer Chemotherapie, die noch keine Varizellen durchgemacht haben, vertragen die Varizellen-Lebendimpfung im chemotherapiefreien Intervall erstaunlich gut, wogegen die Varizellen diese Kinder sehr gefährden.

Impfungen bei ZNS-Erkrankungen

Ein Hirnschaden gilt nicht als Kontraindikation gegen die Routineimpfungen (mit Ausnahme der Pertussisimpfung) oder andere indizierte Impfungen. Kinder mit Anfallsleiden sollten medikamentös möglichst gut eingestellt sein und nach der Impfung besonders überwacht werden. Risikokinder sollten vor Beginn der Routineimpfungen neurologisch untersucht werden, um kindliche Zerebralparesen zu erkennen (Vorsorgeuntersuchung). Eine Pertussisimpfung sollte bei betroffenen Kindern nicht durchgeführt werden. Kinder mit Neigung zu Fieberkrämpfen können gegebenenfalls prophylaktisch Antipyretika erhalten.

Impfungen bei Allergikern

Impfungen sollen bei Personen, die eine Allergie gegen Bestandteile des Impfstoffes angeben, nicht durchgeführt werden oder, falls unumgänglich, unter Bereitschaft zur intensivmedizinischen Intervention. Dies betrifft je nach Impfstoff Allergien gegen Hühnereiweiß, Antibiotika, Konservierungsmittel (Quecksilber) und Formaldehyd. Gegebenenfalls kann man auch bei Sicherheitsvorkehrungen mit Impfstoffen intrakutane Vortestungen (Quaddel 0,1 ml) durchführen. Nachweislich läßt sich dadurch manchmal bereits Immunität erzeugen.

Impfungen und Schwangerschaft

Lebendimpfungen sind in der Schwangerschaft prinzipiell kontraindiziert. Muß eine Schwangere in ein gefährdetes Gebiet reisen, sollte sie gegen **Gelbfieber** geimpft werden, wobei man versuchen wird, das erste Trimenon vorher verstreichen zu lassen. Impfungen mit **Totimpfstoffen** sind prinzipiell möglich, allerdings wird man die Indikation genau prüfen und Impfungen mit Impfstoffen, die bekanntermaßen eher zu systemischen Nebenwirkungen führen, vermeiden, vor allem im ersten Trimenon. Das Gesagte schließt ein, daß man eine **Influenzaimpfung** in der Schwangerschaft durchführen kann und daß es leichtfertig wäre, eine entsprechend exponierte Frau (z.B. medizinischer Beruf) wegen einer Schwangerschaft nicht gegen **Hepatitis B** zu impfen, umso mehr als eine Hepatitis B-Erkrankung in der Schwangerschaft eher schwerer verläuft. Die **Tetanusimpfung** einer Schwangeren ist z.B. in manchen afrikanischen Ländern dringend indiziert, da durch diese der gefürchtete Tetanus neonatorum (Nabelschnurinfektion) verhindert werden kann. Eine **passive Immunisierung** mit homologen Immunglobulinpräparaten ist zu jedem Zeitpunkt der Schwangerschaft möglich und kann wegen der Schwangerschaft indiziert sein (s. Röteln-, Varizellenexposition).

12.10 Dauer einer Immunität

Für homologe Immunglobuline gilt, daß ihre Wirksamkeit je nach Indikation und Dosis in Abhängigkeit von der biologischen Halbwertszeit kurz ist (Wochen bis wenige Monate).

Der Antikörperabfall erfolgt nach einer biphasischen Kurve. Die Serumhalbwertszeit beträgt bei Patienten mit primärer Immundefizienz etwa 18–30 Tage. Die individuellen Schwankungen sind nicht unerheblich und die Halbwertszeit kann bei Vorliegen bestimmter Grundkrankheiten oder Infektionen bis auf wenige Tage verkürzt sein.

Viele Angaben über die Dauer des Schutzes nach aktiven Impfungen sind schon deshalb spekulativ, weil die Impfstoffe erst seit einigen Jahren oder wenigen Jahrzehnten Verwendung finden. Hinzu kommt auch, daß die Reaktion jedes Impflings verschieden ist, wie die Antikörperbestimmungen nach Hepatitis B-Impfung (Subunitvakzine), aber auch Rötelnimpfung (Lebendimpfstoff) sehr deutlich gezeigt haben.

Von vielen Viruslebendimpfstoffen erhofft man eine lebenslange Immunität, auch ohne Auffrischungen durch die schwer faßbaren, klinisch inapparenten Nachfolgeinfektionen mit Wildviren. Bei der Masernimpfung spricht vieles für ein Erreichen dieses Zieles. Bei der Rötelnimpfung gelingt dies nachweislich bei einer Reihe von Impflingen nicht, so daß Wiederimpfungen und Antikörperkontrollen vor einer Schwangerschaft notwendig bleiben. Auch bei der Mumpsimpfung gibt es Zweifel an einer – an Antikörpertitern meßbaren – generell lebenslangen Immunität. Die Gelbfieberimpfung gilt im internationalen Reiseverkehr für 10 Jahre, neutralisierende Antikörper lassen sich jedoch häufig wesentlich länger nachweisen. Eine einmal erzielte Immunität gegen Polioviren dürfte sehr lange (lebenslang?) Bestand haben. Die häufigen Auffrischimpfungen dienen hier mehr zur Elimination von Impfversagern, die z.B. auf Grund interkurrenter Infektionen mit anderen enteropathogenen Viren vorkommen und die durch den Neutralisationstest nur mit großem Aufwand zu finden sind.

Die antitoxische Immunität gegen Tetanus und Diphtherie wird nach vollständiger Grundimmunisierung mit 10 Jahren angegeben. In vielen Fällen hält die Immunität wohl länger an, und selbst wenn keine ausreichenden antitoxischen Antikörper mehr nachweisbar sind, kommt es nach einer Toxoidgabe zu einem raschen und kräftigen Antikörperanstieg.

Die Immunität nach Impfungen mit bakteriellen Impfstoffen hält zwischen wenigen Monaten (Cholera, Typhus-Lebendimpfung oral) und wenigen Jahren (Typhus-Totimpfstoff parenteral) an. Die Aussagen sind hier noch schwieriger, da

die Schutzwirkung weniger absolut und die Immunitätsbestimmung schwieriger ist. So kann die Tuberkulinprobe nach BCG-Impfung länger positiv bleiben als der Schutz vor Erkrankung.

Literatur

HOFMANN, F. (Hrsg.): Infektiologie, Bd. I–III. Ecomed-Verlag, Landsberg 1991–1999.

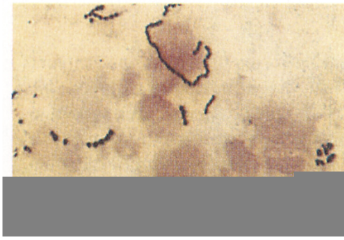


Abb. 2.6 Eiterpräparat mit Streptokokken, GRAM-Färbung. Gram-positive (blauschwarz) kettenförmig gelagerte Kokken (Streptokokken). Die Länge der Ketten ist verschieden. Zerfallene Eiterzellen.

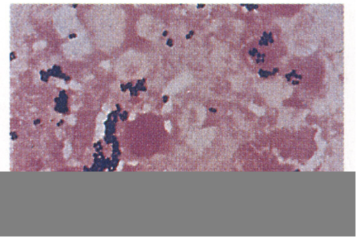


Abb. 2.7 Eiterpräparat mit Staphylokokken, GRAM-Färbung. Zerfallene Eiterzellen mit haufenförmig gelagerten, gram-positiven Traubenkokken (Staphylokokken).



Abb. 2.8 Eiterpräparat mit Pneumokokken, Methylenblaufärbung. Längliche, lanzettförmige Diplokokken (Pneumokokken) im Eiterpräparat.



Abb. 2.9 Vaginalabstrich, GRAM-Färbung. Man sieht die Normalflora, die Döderlein-Stäbchen (grampositive, sporenlose Bakterien der Gattung *Lactobacillus*).

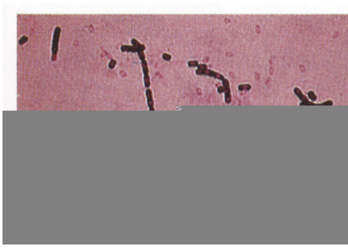


Abb. 2.10 Milzbrandbazillen, GRAM-Färbung. Die grampositiven Milzbrandbazillen zeigen Sanduhr- und Bambusstabform mit mittelständigen, nicht auftreibenden Sporen.



Abb. 2.11 Gasbrandbazillen, GRAM-Färbung. Die Erreger des Gasbrands *(Clostridium perfringens)* sind plumpe, grampositive Stäbchen mit abgerundeten Enden.

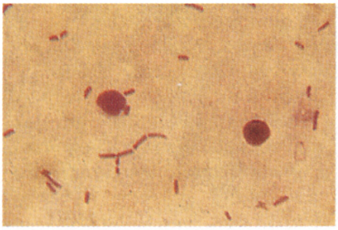


Abb. 2.12 Harnsediment mit *E. coli*, GRAM-Färbung. Gram-negative Stäbchenbakterien *(E. coli)* und Leukozyten.

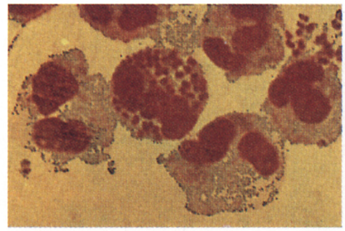


Abb. 2.13 Gonokokkeneiter, GRAM-Färbung. Hitzefixierter Zervixabstrich, nach GRAM-Färbung mit *intra-* und *extrazellulär* (rechts oben) gelegenen semmelförmigen, gramnegativen Diplokokken; morphologische Abweichungen häufig nach Antibiotikabehandlung (z.B. Penicillin).

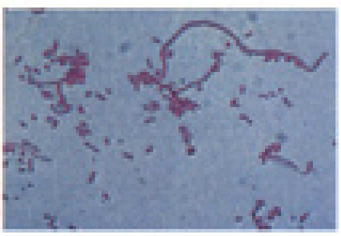


Abb. 2.14 Influenzabakterien, GRAM-Färbung. Das Kulturpräparat des *Haemophilus influenzae* zeigt deutlich die für diese Art charakteristische *Pleomorphie* von Kurzstäbchen und ausgesprochene Riesenformen; gefürchtet als Erreger von Otitiden und Meningitiden bei Kindern.

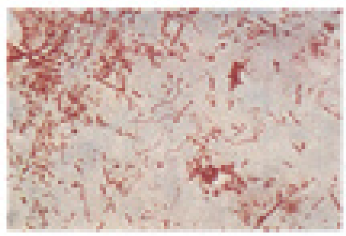


Abb. 2.15 Abstrichpräparat bei Angina Plaut-Vincent. Die Angina Plaut-Vincent wird im Labor mikroskopisch diagnostiziert. Neben spindelförmigen Bakterienzellen *(Fusobacterium nucleatum)* findet sich *Treponema vincentii* mit typischer Schraubenform (GRAM-Färbung).



Abb. 2.16 Tuberkulosebakterien, Sputumpräparat, ZIEHL-NEELSEN-Färbung. *Mycobacterium tuberculosis,* der Erreger der Tuberkulose, zeigt sich in dem Sputumpräparat leuchtend rot als zartes, längliches Stäbchen in typischer Lagerung vor der durch die Gegenfärbung blaßblauen Umgebung.



Abb. 2.17 Nasenabstrich mit Leprabakterien, ZIEHL-NEELSEN-Färbung. Die säurefesten Bakterien stellen sich bei der ZIEHL-NEELSEN-Färbung rot dar und sind häufig in ovalären Globi angeordnet.

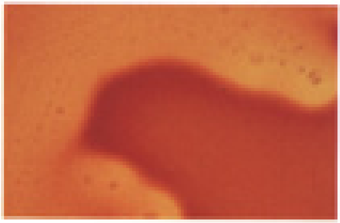


Abb. 4.3 Weiträumige β-Hämolyse des Schafblutagars in der Umgebung von *Streptococcus pyogenes*-Kolonien



Abb. 4.5 Grob-lamelläre Schuppung der Handflächen und Finger am Ende einer Scharlacherkrankung.



Abb. 4.6 Erysipel eines Unterschenkels mit deutlich sichtbarer Schwellung und Rötung. Neben dem Gesicht ist dies die häufigste Lokalisation für diese Erkrankung.

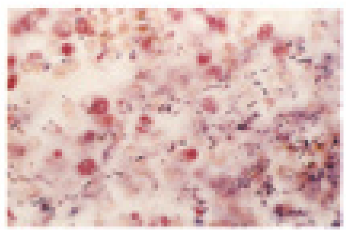


Abb. 4.7 Eitriges Sekret mit Granulozyten und teilweise in Ketten gelagertem *Streptococcus pyogenes* (Gram-gefärbtes Präparat eines Abstrichs).

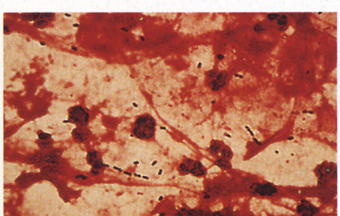


Abb. 4.9 Sputum mit Bakterien und Granulozyten bei einer Pneumokokken-Bronchopneumonie. Die Kapsel der Pneumokokken wird als helle Zone um die Bakterien herum sichtbar (GRAM-gefärbtes Präparat).

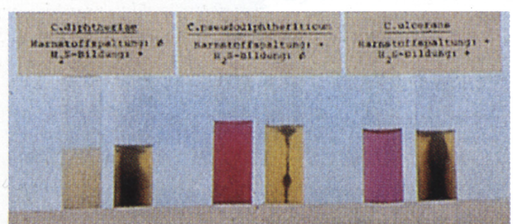


Abb. 4.36 Biochemische Differenzierungcon *Corynebacterium*-Arten.

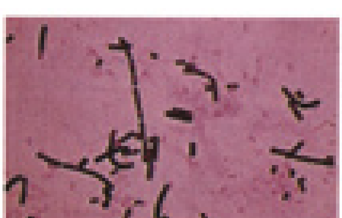


Abb. 4.37 *Bacillus anthracis,* GRAM-Färbung

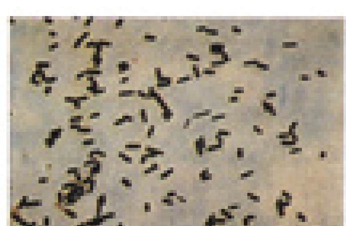


Abb. 4.47 *Clostridium perfringens,* GRAM-Färbung. Die Erreger des Gasbrandes sind plumpe, grampositive Stäbchen mit abgerundeten Enden.

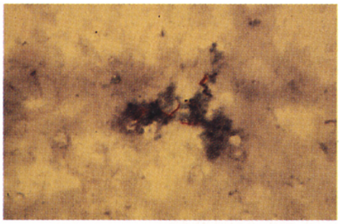
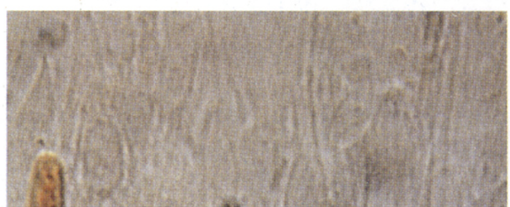


Abb. 4.50 ZIEHL-NEELSEN-Färbung eines Sputumpräparates eines Tuberkulosepatienten. Die Tuber-



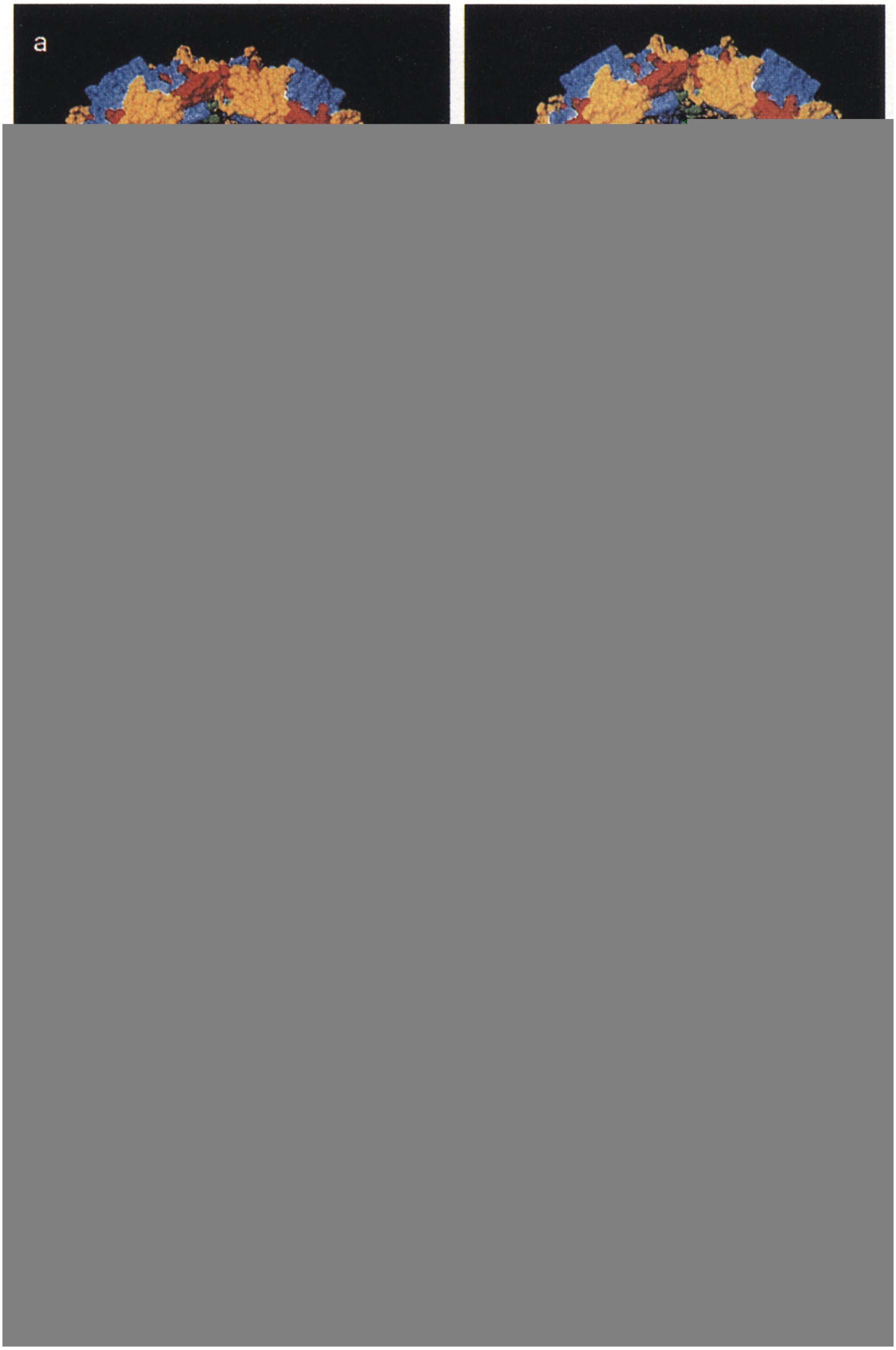


Abb. 5.5a–c Die innere a) und äußere b) Oberfläche von Poliovirus 1 in einer **Stereo-Darstellung** aufgrund der Röntgenstrukturanalyse. VP_1 ist blau, VP_2 gelb, VP_3 rot, VP_4 grün; c) Anordnung von Polypeptiden auf der Oberfläche des Poliovirus. (HOGLE, J. M., M. CHOW, and D. J. FILMAN: Science 229 (1985) 1358).



Abb. 6.27 Nachweis des Oberflächenproteins VP4 in Rotavirus (SA11 4fm)-infizierten MA 104-Zellen (9 Stunden nach der Infektion) mittels Immunfluoreszenz

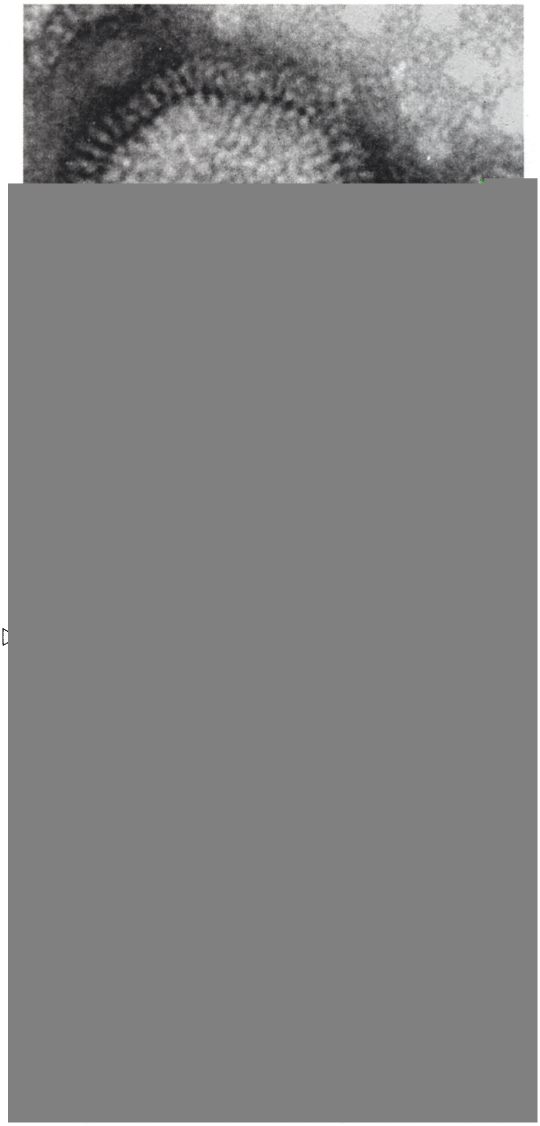


Abb. 6.29 Struktur des Influenza-A-Virus. *Oben*: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Viruspartikels (Durchmesser ca. 100nm). Die Spikes an der Oberfläche (Länge 10nm) sind deutlich erkennbar. Mitte: Schematischer Aufbau eines Partikels. Die Hülle enthält Hämagglutinin (HA)- und Neuraminidase (NA)-Spikes, sowie das M2 Protein. Im Inneren findet man 8 Ribonukleoproteine, die aus den genomischen RNA-Segmenten, dem Nukleokapsidprotein NP, sowie den Polymeraseproteinen PB1, PB2 und PA bestehen. Die Innenseite der Membran ist vom Matrixprotein M1 ausgekleidet. Ein weiteres Protein (NS2) liegt in geringen Mengen vor. *Unten*: HA-Spike von der Seite und von oben betrachtet. Der Spike besteht aus 3 Monomeren, die durch die Farben rot, grün und blau markiert sind. Die Rezeptorbindungsstellen an der Spitze des Spikes und die Fusionspeptide im unteren Bereich sind als graue bzw. gelbe Domänen hervorgehoben (mit freundlicher Genehmigung von J.J. Skehel, NIMR, Mill Hill).

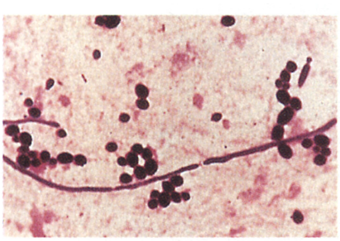


Abb. 8.3 Mundschleimhautabstrich mit *Candida*. Die ovalen Zellen von *Candida* vermehren sich durch Sprossung und färben sich gram-positiv.

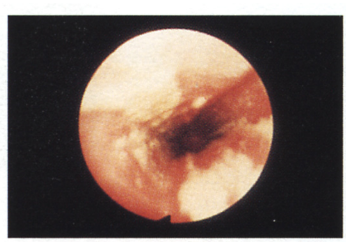


Abb. 8.4 Ösophagus-Endoskopie bei Candida-Ösophagitis (zur Verfügung gestellt von Prof. Schrappe, Universitätskliniken Köln).

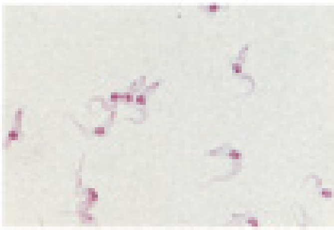


Abb. 10.3 Trypanosomen, Giemsa-Färbung. Charakteristisch für die Trypanosomen ist der Besitz von Zellkern, Geißel und Kinetoplast. Größe der Parasiten 20 bis 30 mµ. Eine Teilungsform.

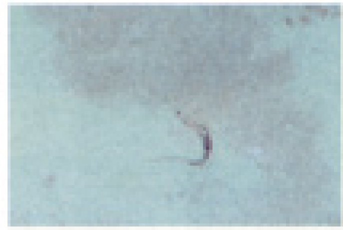


Abb. 10.4 *Trypanosoma,* Giemsa-Färbung. *Trypanosoma brucei gambiense* im Blut (Dicker Tropfen) 3 Wochen nach Infektion durch Tsetsefliege. Kinetoplast und Geißel sind deutlich zu erkennen. Patient aus Zaire.

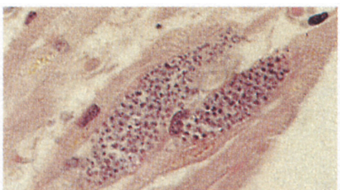


Abb. 10.6 *Trypanosoma cruzi,* HE-Färbung. Nester von Amastigoten im Myokard des Menschen, sog. Pseudozyste.

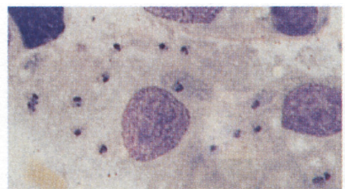


Abb. 10.8 *Leishmania donovani,* Giemsa-Färbung Knochenmarkausstrich. Retikulumzellen mit Leishmanien (3–5mm). Neben dem Zellkern der Leishmanien ist der Kinetoplast als diagnostisches Kriterium zu beachten.

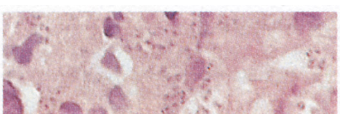


Abb. 10.9 *Leishmania tropica,* HE-Färbung. Gewebeprobe aus dem Rand einer Orientbeule. Histiozyten mit zahlreichen Leishmanien, die im histologischen Präparat etwas kleiner erscheinen als im Ausstrich. Hämatoxylin-Eosin-Färbung.



Abb. 10.12 *Trichomonas vaginalis,* Giemsa-Färbung. Im Fluor, zusammen mit zahlreichen Bakterien der Scheidenflora. Geißel, undulierende Membran und Achsenstab sind deutlich sichtbar.

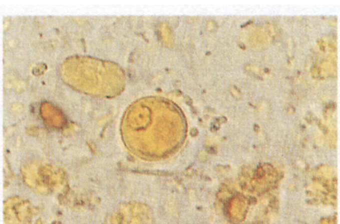


Abb. 10.15 *Entamoeba histolytica,* Jodpräparat. Einkernige Zyste im Stuhl. Direktuntersuchung mit Lugolscher Lösung.

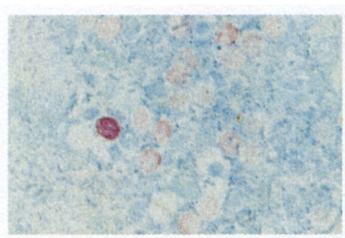
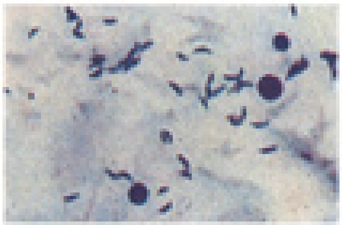
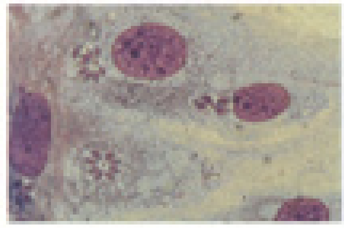
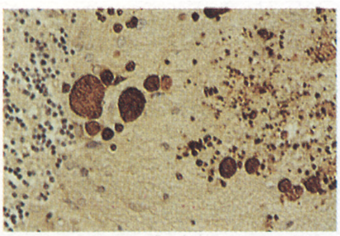
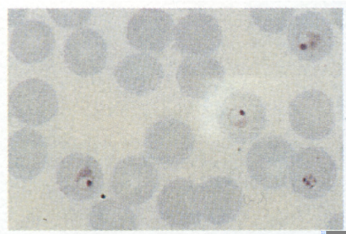


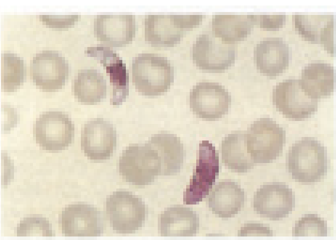
Abb. 10.18 *Cryptosporidium,* modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung. Im Stuhl des Menschen (AIDS-Fall). Neben stark rot gefärbtem Parasit zahlreiche schwächer gefärbte Parasiten.











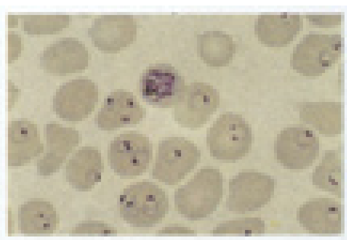




Abb. 10.32 *Plasmodium vivax.* Malaria-tertiana-Blutausstrich. GIEMSA-Färbung.
Teilungsform (Schizont). Weiterhin kleine Trophozoiten, ein rotes Blutkörperchen mit Mehrfachbefall. Schwache SCHÜFFNER-Tüpfelung.

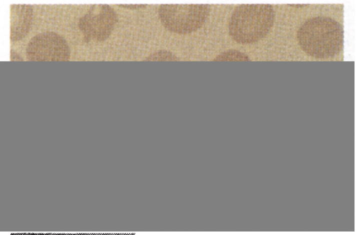


Abb. 10.33 *Plasmodium malariae.* Malaria-quartana-Blutausstich. GIEMSA-Färbung.
Schizont mit rosettenförmiger Anordnung der Merozoiten. Pigmentkörnchen in der Mitte.

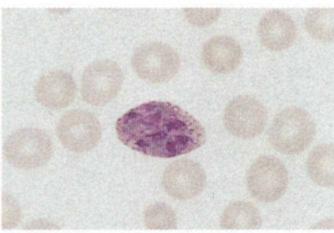


Abb. 10.34 *Plasmodium ovale.* Malaria-tertiana-Blutausstrich. GIEMSA-Färbung.
Schizont. Deutliche SCHÜFFNER-Tüpfelung. Ovale Verformung der befallenen roten Blutkörperchen. Dieses Kriterium ist aber nicht immer vorhanden und kann auch bei anderen Plasmodien-Arten vorkommen.

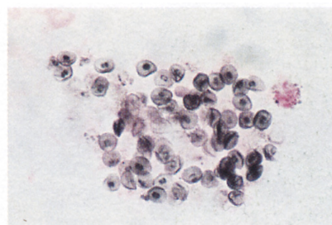


Abb. 10.36 *Pneumocystis carinii.* Zysten im Material aus einer Bronchiallavage. Silberfärbung nach GROCOTT.



Abb. 10.37 *Schistosoma mansoni,* Wurmpärchen. Das schlankere Weibchen ist größtenteils aus dem Canalis gynaecophorus des Männchens ausgetreten. Länge des Männchens etwa 10 mm.

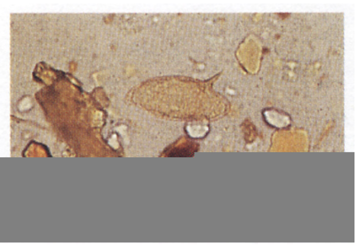


Abb. 10.41 *Schistosoma mansoni,* Ei, Stuhlpräparat. Typisch ist der Seitenstachel. Größe dieser Eier: 120–170 x 50–70 μm.



Abb. 10.43 *Fasciola hepatica,* Ei, Stuhlpräparat. Die Eier haben typischerweise einen Deckel (operculum). Größe dieser Eier: 130–150 x 60–90 μm.



Abb. 10.44 *Taenia saginata,* Teile der Gliederkette, nach Therapie abgegangen. Proglottiden im Verband und einzeln.













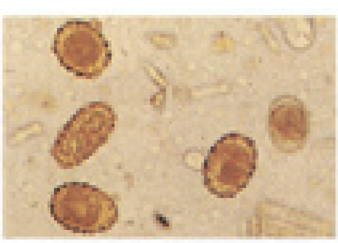






Abb. 10.65 *Trichinella spiralis,* Muskelquetschpräparat. Larve aus einer Muskelbiopsie vom Menschen.



Abb. 10.66 *Trichuris trichiura,* Eier im Stuhl. Größe der Eier: 50–55 x 20–25 μm. Die braune Farbe rührt von den Stuhlfarbstoffen her.



Abb. 10.68 *Loa loa,* Mikrofilarie, Dicker Tropfen, Hämatoxylinfärbung. Mikrofilarie aus dem Blut. Typisch die bis in die Schwanzspitze reichenden Zellkerne und die Eihaut (Scheide). Länge dieser Mikrofilarien: 250–300 μm.



Abb. 11.5 Nekrosen der Fingerspitzen bei disseminierter intravasaler Koagulopathie aufgrund einer foudroyanten Pneumokokken-Sepsis bei Postsplenektomie-Syndrom.

Die zu meldenden Erkrankungen und Erreger-nachweise sind hier nochmals zusammengefaßt.

II) Dem Gesundheitsamt ist zu melden, wenn Personen, die an einer behandlungsfähigen **Tu-**

24. Influenzaviren; Meldepflicht nur für den direkten Nachweis
25. Lassavirus
26. Legionella sp.
27. Leptospira interrogans
28. Listeria monocytogenes; Meldepflicht nur für den direkten Nachweis aus Blut, Liquor oder anderen normalerweise sterilen Substraten sowie aus Abstrichen von Neugeborenen
29. Marburgvirus
30. Masernvirus
31. Mycobacterium leprae
32. Mycobacterium tuberculosis/africanum, Mycobacterium bovis; Meldepflicht für den direkten Erregernachweis sowie nachfolgend für das Ergebnis der Resistenzbestimmung; vorab auch für den Nachweis säurefester Stäbchen im Sputum
33. Neisseria meningitidis; Meldepflicht nur für den direkten Nachweis aus Liquor, Blut, hämorrhagischen Hautinfiltraten oder anderen normalerweise sterilen Substanzen
34. Norwalk-ähnliches Virus; Meldepflicht nur für den direkten Nachweis aus Stuhl
35. Poliovirus
36. Rabiesvirus
37. Rickettsia prowazekii
38. Rotavirus
39. Salmonella paratyphi; Meldepflicht für alle direkten Nachweise
40. Salmonella typhi; Meldepflicht für alle direkten Nachweise
41. Salmonella, sonstige
42. Shigella sp.
43. Trichinella spiralis
44. Vibrio cholerae O 1 und O 139
45. Yersinia enterocolitica, darmpathogen
46. Yersinia pestis
47. Andere Erreger hämorrhagischer Fieber

II) **Nichtnamentlich** ist bei folgenden Krankheitserregern der direkte oder indirekte Nachweis zu melden:

1. Treponema pallidum
2. HIV
3. Echinococcus sp.
4. Plasmodium sp.
5. Rubellavirus (Meldepflicht nur bei konnatalen Infektionen)
6. Toxoplasma gondii (Meldepflicht nur bei konnatalen Infektionen)

§ 8: Zur Meldung verpflichtete Personen

1. Bei Verdacht, Erkrankung oder Tod (§ 6) der feststellende Arzt (in Krankenhäusern oder anderen Einrichtungen zur stationären Pflege ist auch der leitende Arzt verantwortlich).
2. Zur Meldung von Krankheitserregern (§ 7) sind die Leiter von Medizinaluntersuchungsämtern und sonstigen privaten oder öffentlichen Untersuchungsstellen einschließlich der Krankenhauslaboratorien verpflichtet.

Weitere Regelungen betreffen Sonderfälle (Tierärzte, Pathologen, Kapitäne usw.)
Der § 9 regelt die Formalitäten der namentlichen Meldung; § 10 die der nichtnamentlichen Meldung.
Die namentlichen Meldungen müssen unverzüglich, spätestens innerhalb von 24 Stunden an das für den Aufenthaltsort des Betroffenen zuständige Gesundheitsamt erfolgen; bei Meldungen von Keimnachweisen an das für den Einsender zuständige Gesundheitsamt
Nichtnamentliche Meldungen (§ 7, Abs. 3) müssen innerhalb von 2 Wochen an das Robert Koch-Institut erfolgen.

In **Gemeinschaftseinrichtungen** nach § 33: Betreuungsstätten für überwiegend Säuglinge, Kinder und Jugendlicher, insbesondere Kinderkrippen, Kindergärten, Kindertagesstätten, Kinderhorte, Schulen oder sonstige Ausbildungseinrichtungen, Heime, Ferienlager und ähnliche Einrichtungen, dürfen nach § 34

(1) Personen, die an

1. Cholera
2. Diphtherie
3. Enteritis durch hämorrhagische E. coli (EHEC)
4. virusbedingtem hämorrhagischem Fieber
5. Haemophilus influenzae Typ b-Meningitis
6. Impetigo contagiosa (ansteckende Borkenflechte)
7. Keuchhusten
8. ansteckungsfähiger Lungentuberkulose
9. Masern
10. Meningokokken-Infektion
11. Mumps
12. Paratyphus
13. Pest
14. Poliomyelitis
15. Scabies (Krätze)

16. Scharlach oder sonstigen Streptococcus pyogenes Infektionen
17. Shigellose
18. Typhus abdominalis
19. Virushepatitis A oder E
20. Windpocken

erkrankt oder dessen verdächtig oder die verlaust sind, keine Lehr-, Erziehungs-, Pflege-, Aufsichts- oder sonstige Tätigkeiten ausüben, bei denen sie Kontakt zu den dort Betreuten haben, bis nach ärztlichem Urteil eine Weiterverbreitung der Krankheit oder der Verlausung durch sie nicht mehr zu befürchten ist. Das gleiche gilt für die erkrankten Kinder und Jugendlichen dieser Gemeinschaftseinrichtungen, die dann die Räume nicht betreten, Einrichtungen der Gemeinschaftseinrichtung nicht nutzen und an Veranstaltungen derselben nicht teilnehmen dürfen. Das gilt auch für Kinder, die das 6. Lebensjahr noch nicht vollendet haben und an infektiöser Gastroenteritis erkrankt oder dessen verdächtig sind.

(2) **Ausscheider** von

1. Vibrio cholerae
2. Corynebacterium diphtheriae, Toxin bildend
3. Salmonella typhi
4. Salmonella paratyphi
5. Shigella sp.
6. enterohämorrhagischen E. coli (EHEC)

dürfen nur mit Zustimmung des Gesundheitsamtes und unter Beachtung der gegenüber dem Ausscheider und der Gemeinschaftseinrichtung verfügten Schutzmaßnahmen die Räume der Gemeinschaftseinrichtung betreten, deren Einrichtungen benutzen und an deren Veranstaltungen teilnehmen.

Das gleiche gilt nach § 34, Abs. (3) für Personen, in deren Wohngemeinschaft nach ärztlichem Urteil eine Erkrankung an oder ein Verdacht auf:

1. Cholera
2. Diphtherie
3. Enteritis durch enterohämorrhagische E. coli (EHEC)
4. virusbedingtem hämorrhagischem Fieber
5. Haemophilus influenzae Typ b-Meningitis
6. ansteckungsfähige Lungentuberkulose
7. Masern
8. Meningokokken-Infektionen
9. Mumps
10. Paratyphus
11. Pest
12. Poliomyelitis
13. Shigellose
14. Typhus abdominalis
15. Virushepatitis A und E

aufgetreten ist.

Die vorstehenden Angaben entsprechen nicht in allen Fällen dem Wortlaut des IfSG.

Register

R

R

R

R